

**VERHALTEN VON OROTSÄURE- UND
HARNSÄUREAUSSCHEIDUNG DES MENSCHEN
UNTER DER EINWIRKUNG VON „THIOPURINOL“,
EINEM HEMMER DER HARNSÄURESYNTHESE,
SOWIE UNTER „ALLOPURINOL“
ALS VERGLEICHSSUBSTANZ**

**UNTERSUCHUNG AN ZEHN GESUNDEN
VERSUCHSPERSONEN UNTER DEN BEDINGUNGEN EINER
(MITTELS STANDARDISIERTEN FERTIGGERICHTEN)
MODIFIZIERTEN FORMELDIÄT MIT KONSTANTEM
PURINGEHALT UND EINER GLEICHBLEIBENDEN
PURINSTOFFZUFUHR ANHAND VON HEFE-RNS
ÜBER FÜNFUNDZWANZIG TAGE**

Anton Schmid

1977



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555616_0028

DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK oHG
8 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2 8 0 9 0 9 0

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof.Dr.N.ZÖLLNER

VERHALTEN VON OROTSÄURE- UND HARNSÄUREAUSSCHIEDUNG DES MENSCHEN UNTER DER EINWIRKUNG VON "THIOPURINOL", EINEM HEMMER DER HARNSÄURESYNTHESE, SOWIE UNTER "ALLOPURINOL" ALS VERGLEICHSSUBSTANZ.

UNTERSUCHUNG AN ZEHN GESUNDEN VERSUCHSPERSONEN UNTER DEN BEDINGUNGEN EINER (MITTELS STANDARDISIERTEN FERTIGGERICHTEN) MODIFIZIERTEN FORMELDIÄT MIT KONSTANTEM PURINGEHALT UND EINER GLEICHBLEIBENDEN PURINSTOFFZUFUHR ANHAND VON HEFE-RNS ÜBER FÜNFUNDZWANZIG TAGE.

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Anton S c h m i d

aus

Rotthalmünster

Jahr

1977

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität
München

Berichterstatter: Professor Dr. N. Zöllner

Mitberichterstatter: Privat-Dozent Dr. W. Gröbner

Dekan: Professor Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung:

05. August 1977



INHALTSVERZEICHNIS

I EINLEITUNG

- 1) Purin- und Pyrimidin-Stoffwechsel (Allgemeines)
- 2) Harnsäuresynthesehemmer "Allopurinol" (Erfahrungen)
- 3) Zielsetzung: Synthesehemmer "Thiopurinol" versus "Allopurinol"

II METHODIK

- 1) Beobachtungsgut
- 2) Versuchsablauf
- 3) Versuchsdurchführung
 - a) Urinsammeln
 - b) Diät - Berechnung der Kalorienbedürfnisse
 - c) Diät - Richtlinien
 - d) Diät - Zusammenstellung
 - e) Diät - sonstige Erfordernisse
 - f) Purinstoffträger
 - g) Harnsäuresynthesehemmer
- 4) Materialien zur Diät

III BESTIMMUNG DER HARNSÄURE IM URIN

- 1) Allgemeines
- 2) Methodik und Prinzip
- 3) Reagenzien zur Bestimmung
- 4) Durchführung
 - a) Urinverdünnungen
 - b) Schematischer Ablauf
 - c) Arbeitsgang
 - d) Berechnung

IV BESTIMMUNG DES KREATININ IM URIN

V BESTIMMUNG DER OROTSÄURE IM URIN

- 1) Allgemeines
- 2) Methodik und Prinzip

- 3) Reagenzien zur Bestimmung
- 4) Durchführung
 - a) Schematischer Ablauf
 - b) Photometrische Messung
- 5) Berechnung

VI HILFSMITTEL ZUR VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

- 1) Allgemeine Materialien
- 2) Materialien zur Harnsäurebestimmung
- 3) Materialien zur Orotsäurebestimmung

VII EICKURVEN

- 1) Harnsäureeickkurven
- 2) Orotsäureeickkurven

VIII ERGEBNISSE

- 1) Urinausscheidung
- 2) Kreatininausscheidung
- 3) Harnsäureausscheidung
- 4) Orotsäureausscheidung

IX DISKUSSION DER ERGEBNISSE

- 1) Harnsäureausscheidung
- 2) Orotsäureausscheidung
- 3) Paarvergleiche zwischen einzelnen Versuchstagen
in den jeweiligen Versuchsgruppen
 - a) Kontrollzeitpunkte
 - b) Berechnung
 - c) Harnsäureausscheidung
 - d) Orotsäureausscheidung
- 4) Paarvergleiche zwischen beiden Versuchsgruppen
an ausgewählten Versuchstagen
 - a) Kontrollzeitpunkte
 - b) Harnsäureausscheidung
 - c) Orotsäureausscheidung

X VERGLEICHE MIT ERGEBNISSEN ANDERER AUTOREN

- 1) Allo- und Thiopurinolwirkung im Stoffwechsel
- 2) Therapeutische Effekte der beiden Synthesehemmer
- 3) Gegenüberstellung von Harn- und Orotsäureausscheidungen aus der eigenen Arbeit

XI ZUSAMMENFASSUNG

XII LITERATURANGABEN

VERZEICHNIS DER TABELLEN, ÜBERSICHTEN UND ABBILDUNGEN
IN DER REIHENFOLGE DER TEXTEINFÜGUNGEN

Tabelle	Übersicht	Abbildung	Seite
	1	Biosynthese des Purinringes und der Purin- ribonucleoside, -nucleotide und -basen	8
1		Daten zu den Versuchspersonen nebst Umsatz- berechnungen	11
2		Speisenplan der Hipp-Gerichte	15
3		Speisenplan der Hipp-Gerichte	16
4		Speisenplan der Hipp-Gerichte	17
5		Zusammenstellung und Analyse des Müesli nebst der des Vollkornbrottes	18
	2	Wochenspeiseplan	21
	3	Merkblatt zum Versuch	24 - 26
6		Tagesmengen an Müesli für die einzelnen Versuchspersonen	27
7		Kalorienanteil der einzelnen Diätbestand- teile	28
8		Durch Müesli gedeckter Kalorienbedarf pro Person und Tag	29
9		Gewichtstabelle der Versuchspersonen (gesamte Versuchsdauer)	30
	4	Pipettierschema zur Harnsäurebestimmung	41
	1	Zeitlicher Ablauf des Harnsäureabbaues zu Allantoin mittels Uricase	43
	2	Absorptionsspektren von Harnsäure und Allantion	46
	3	Ablauf der Extinktion bei der Durchfüh- rung der differentialspektrometrischen Harnsäurebestimmung	47

Tabelle	Übersicht	Abbildung	Seite
	5	Pipettierschema zur Orotsäurebestimmung	52
	4	Eichkurven zur Harnsäurebestimmung	64
	5	Eichkurven zur Orotsäurebestimmung	65
10		Urinausscheidung in ml/24 h	69
11		Kreatininausscheidung im Urin in mg/24 h	70
	6	Verhalten von Kreatininausscheidung zu Urinvolumen	71
12		Harnsäureausscheidung im Urin in mg/24 h	73
13		Harnsäureausscheidung beider Gruppen (Mittelwerte, Standardabweichung und mittlerer Fehler)	74
	7	Verlauf der Harnsäureausscheidungskurve von Gruppe I und II	75
	8	Graphik der Mittel- und Einzelwerte der Harnsäureausscheidung	76
	9	Graphik der Mittelwerte der Harnsäure- ausscheidung beider Gruppen mit mittlerem Fehler	77
14		Orotsäureausscheidung im Urin in mg/24 h	84
15		Orotsäureausscheidung beider Gruppen (Mittelwerte, Standardabweichung und mittlerer Fehler)	85
	10	Verlauf der Orotsäureausscheidungskurve von Gruppe I und II	86
	11	Graphik der Mittel- und Einzelwerte der Orotsäureausscheidung	87
	12	Graphik der Mittelwerte der Orotsäure- ausscheidung beider Gruppen mit mittlerem Fehler	88

Tabelle	Übersicht	Abbildung	Seite
16		Berechnungen: Paarvergleiche der Harnsäureausscheidung in den Gruppen I und II	92
17		Berechnungen: Paarvergleiche der Orotsäureausscheidung in den Gruppen I und II	95
18		Berechnungen: Paarvergleiche der Harnsäureausscheidung zwischen Gruppe I und II	97
19		Berechnungen: Paarvergleiche der Orotsäureausscheidung zwischen Gruppe I und II	99
	6	Schematische Darstellung der Purinbiosynthese	103
20		Pyrimidinmetaboliten-Ausscheidung während Allopurinoltherapie (BEARDMORE)	107
21		Harnsäureausscheidung (KELLEY)	109
22		Harnsäureausscheidung während Thiopurinoltherapi (KELLEY)	110
	13	Spiegelbildliche Gegenüberstellung der Harnsäure- und Orotsäureausscheidung (Mittelwert von Gruppe II "Allopurinol")	113
	14	Spiegelbildliche Gegenüberstellung der Harnsäure- und Orotsäureausscheidung (Mittelwert von Gruppe I "Thiopurinol")	114

EINLEITUNG

Zielsetzung

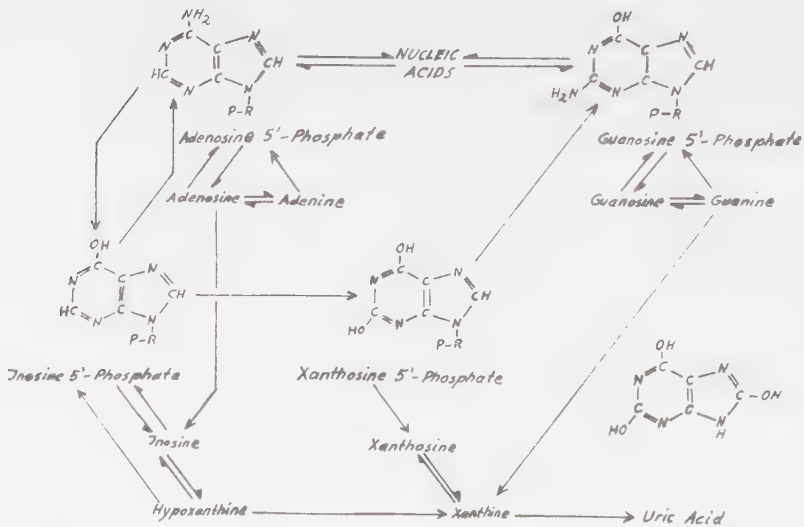
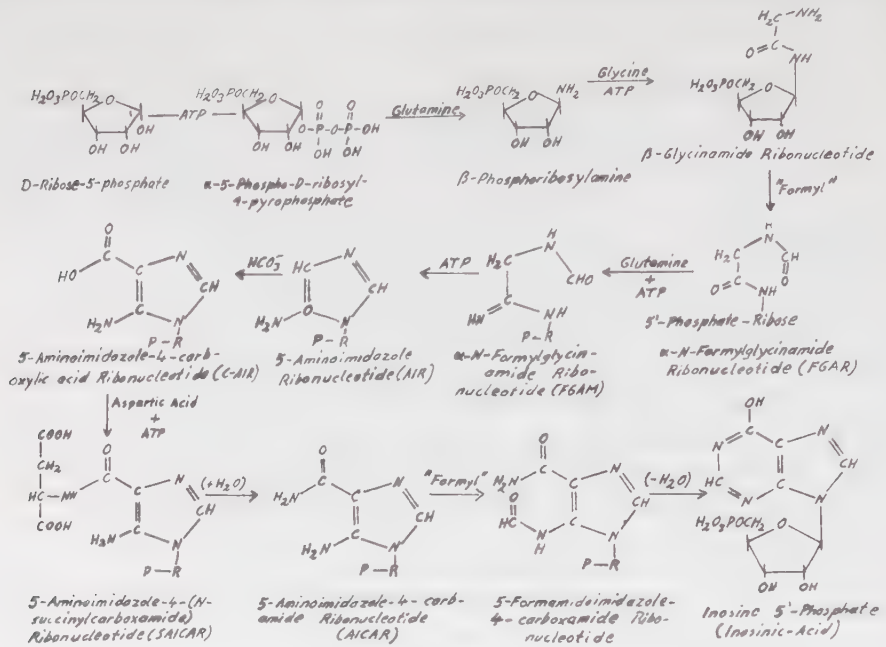
Eine beinahe jahrtausendalte Erfahrung in der Geschichte der Medizin stellt der Symptomenkomplex der "Gicht" dar. Doch erst in unserem Jahrhundert vermochte die medizinische Forschung mehr Licht in das Problem Gicht zu werfen, seine stoffwechselabhängigen Ursachen und Zusammenhänge sowie, in Kenntnis dieser biochemischen Mechanismen, in die Möglichkeiten einer therapeutischen Beeinflussung. Die Hauptursache der Gicht, ein erhöhter Harnsäurespiegel im Gesamtorganismus, wird in erster Linie von zwei Faktoren beeinflusst, nämlich der exogenen Purinstoffzufuhr mittels der Nahrung und der endogenen Produktion, wobei erstere leichter steuerbar und somit vermeidbar ist, während letztere bei Gichtpatienten meist überschießend ist infolge einer Stoffwechselentgleisung bzw. eines hereditären Enzymmangels. Eine gezielte oder zumindest kurative Beeinflussung einer Fehlsteuerung im Um- und Abbau der Purinstoffe wurde erst durch die Kenntnis vom Abbauweg der Purine und Pyrimidine möglich:

Ein Schlüsselenzym und Zwischenprodukt der Purinsynthese ist 5-Phosphoribosyl-1-Pyrophosphat. Diese energiereiche Verbindung ist in zwei Schritten der Purinsynthese eingeschaltet.

Erstens dient sie zusammen mit L-Glutamin als Substrat der Purinsynthese "de novo" [16], zweitens ist sie mit den Purinbasen an der Synthese der Purin-Nucleotide beteiligt, wobei anorganisches Pyrophosphat freigesetzt wird [9,24].

Über mehrere komplizierte Um- und Abbaustufen (Übersicht eins) erreicht die Reaktionskette schließlich das Zwi-

Schema der Biosynthese des Purinringes und seiner Derivate



entnommen aus: "GOUT" (WYNGAARDEN, J. B.; KELLEY et al.); Chapter 39

schenprodukt der Adenosin-5-Phosphat- und Guanosin-5-Phosphat-Bildung, nämlich das Inosin-5-Phosphat, das als die Muttersubstanz der Purinstoffe angesehen werden darf.

Von den Purinbasen können alle leicht in Harnsäure überführt werden, außer dem Adenin, das nur über seine Nucleotide ($\text{AMP} \rightarrow \text{IMP}$) in Hypoxanthin überführt werden kann. Von den anderen Purinbasen wird Guanin durch Guanase in Xanthin, Hypoxanthin durch Xanthinoxidase in Xanthin und das Xanthin wiederum durch die Xanthinoxidase in Harnsäure umgewandelt [4]. Das Xanthin hat drei direkte Vorläufer: Seine Nucleotide (Xanthin-5-Phosphat bzw. Desoxyxanthin-5-Phosphat), freies Hypoxanthin und Guanin (siehe Übersicht 1).

Allopurinol (4-Hydroxypyrazolo-3,4-d-Pyrimidin), ein Strukturisomer des Hypoxanthin (hier ist nur die Stellung "N⁷" mit der Position "C⁸" vertauscht [26]), vermag die Xanthinoxidase, das verantwortliche Enzym für den Endabbau der Purinstoffe im Säugetierorganismus zu Harnsäure, zu hemmen, was wegen der pathologischen Bedeutung der Harnsäure bei der Gichtentstehung von großer Wichtigkeit ist.

Das Allopurinol hat aber nicht nur Einfluß auf den Endabbau der Purinstoffe, sondern kann auch neben anderen chemischen Verbindungen die Purinbiosynthese "de novo" sehr früh hemmen bzw. einschränken. Zu solchen Verbindungen, die um das Phosphoribosylpyrophosphat bei der Phosphoribosyltransferase-Reaktion konkurrieren, zählen neben Allopurinol [10a, 20] auch Orotsäure [19, 17], Adenin [80] und 2,6-Diamino-Purine [28].

Der Harnsäuresynthesehemmer "Allopurinol" hat sich als das Standardmittel bei der Gichtbehandlung im anfalls-

freien Intervall bewährt. Bei seiner Anwendung wird die Harnsäure-Ausscheidung binnen 24 - 48 Stunden vermindert (natürlich auch der Harnsäure-Serumspiegel) und erreicht nach vier Tagen bis zwei Wochen ein Maximum des Abfalls, das dann über lange Zeit relativ konstant bleibt [35,27].

Bei Einnahme von Allopurinol werden nicht nur die unmittelbaren Vorläufer der Harnsäure, wie Xanthin und Hypoxanthin, vermehrt im Urin ausgeschieden, sondern auch Orotsäure [10b,22,21]. Dieser Effekt ist zurückzufolgeln bis zur Hemmung der Orotidyl-Decarboxylase durch das Ribonucleotid Allopurinol [22]. Allopurinol-Therapie bewirkt z.B. eine achtfache Zunahme der Aktivität von Orotic-Phosphoribosyl-Transferase und Orotidyl-Decarboxylase der Erythrocyten, was offenbar auf einen Aktivierungsmechanismus zurückzuführen ist [2]. Die Hauptumsetzungen im Purinstoffwechsel bis hin zum Endprodukt Harnsäure finden jedoch in der Leber statt. Hier ist fast ausschließlich die Hauptaktivität der Xanthinoxidase zu finden und somit ist die Harnsäuresynthese beim Menschen hauptsächlich ein hepatischer Prozeß. Purinabbauprodukte aus anderen Geweben werden zum weiteren Abbau zur Leber transportiert [30,18] und dort findet dann auch hauptsächlich der Eingriff des Allopurinol und seines Abbauproduktes Oxipurinol statt.

In unserem Versuch sollte nun in erster Linie die quantitative Wirkung des Harnsäuresynthesehemmers "Thiopurinol" (mercapto-pyrazolo-pyrimidin) auf die Harnsäure- und Orotsäure-Ausscheidung überprüft werden. Es stellte sich die Frage, wie weit - quantitativ gesehen - das chemisch dem Allopurinol nah verwandte Thiopurinol in den Purin- und Pyrimidinstoffwechsel und deren Endabbau eingreifen könne, was anhand der zu bestimmenden

Daten zu den Versuchspersonen

Dazu errechnete einzelne Größen:

Grundumsatz [kcal] pro m^2 Körperoberfläche und Stunde; pro Versuchsperson
und Stunde sowie 24 Stunden

Arbeitsumsatz pro Versuchsperson und 24 Stunden (= Grundumsatz x 1,6)

Lfd.Nr.	Name	Geschl.	Alter [a]	Größe [cm]	Gewicht [kg]	Körperöf. [m ²]	Grundumsatz pro m ² u. h	Grundumsatz pro VP u. h	Grundumsatz pro VP u. 24 h	Arbeitsumsatz pro VP u. 24 h
1	E.G.	♀	18	160	55,5	1,55	35,7	55,335	1328,040	2124,864
2	E.S.	♀	24	164	56,5	1,61	35,1	56,511	1356,264	2170,022
3	H.D.	♂	26	180	62,0	1,79	38,2	68,378	1641,072	2625,715
4	H.M.	♂	24	170	65,0	1,75	38,7	67,725	1625,400	2600,640
5	H.B.	♂	25	179	65,0	1,82	38,4	69,888	1677,312	2683,699
6	F.D.	♂	24	175	59,5	1,72	38,7	66,564	1597,536	2556,058
7	K.M.	♂	24	186	82,0	2,08	38,7	80,496	1834,904	3091,046
8	H.v.B.	♂	21	181	67,0	1,86	39,4	73,284	1758,816	2814,706
9	B.P.	♂	24	168	60,0	1,68	38,7	65,016	1560,384	2496,614
10	O.T.	♀	20	165	55,0	1,59	35,1	55,809	1339,416	2143,266

Parameter (Harnsäure- und Orotsäure-Ausscheidung) geprüft werden sollte.

Nach den Angaben von DELLBARE et. al. [7b] soll Thiopurinol die Harnsäureausscheidung hemmen, ohne eine gleichzeitige Oxypurinolausscheidung zu verursachen. Um nun zumindest die exogene Zufuhr der Purinstoffe konstant zu halten und von hier aus einen gewissen festen Bezugspunkt für die Ergebnisse zu haben, wurde als Ernährungsgrundlage eine modifizierte Formeldiät mittels Fertiggerichten unter konstanter Zufuhr einer gleichbleibenden Ribonucleinsäuremenge aus Hefe zwei möglichst homogenen Prüfgruppen zu je fünf Personen verabreicht. Eine Gruppe sollte als Prüfgruppe dienen mit dem Prüfstoff "Thiopurinol" und die andere Gruppe als Kontrollkollektiv mit dem Kontrollstoff "Allopurinol". Es war eine Versuchsdauer von 25 Tagen veranschlagt worden, die in drei Perioden aufgeteilt wurde, um die Harnsäure- und Orotsäure-Ausscheidung vor, während und nach Verabreichung der Synthesehemmer zu prüfen. Von den erhaltenen Parametern sollten sich dann Rückschlüsse auf den Wirkmechanismus des Thiopurinol ziehen lassen und Vergleiche mit ähnlichen Versuchen anstellen lassen.

II

METHODIK

1) Beobachtungskollektiv

Zu dem Versuch stellten sich zehn gesunde Personen zur Verfügung (sieben männliche und drei weibliche) im Durchschnittsalter von 23 Jahren (von 18 bis 26 Jahren). Die benötigten Angaben zu den Personen und die daraus errechneten Bedarfsgrößen (Körpergröße, Gewicht und

Körperoberfläche sowie Grundumsatz und Arbeitsumsatz zur Errechnung der benötigten Kalorienzufuhr pro Versuchsperson) finden sich in Tabelle 1.

2) Zeitlicher Versuchsablauf

Die zehn Versuchspersonen erhielten während der ersten elf Versuchstage die modifizierte Formeldiät nebst 4 g Ribonucleinsäure aus Hefe. Nach der Einteilung in zwei Gruppen (I und II) wurden ab dem zwölften Versuchstag bis einschließlich zum einundzwanzigsten Versuchstag der Versuchsgruppe I der Synthesehemmer "Thiopurinol" (300 mg pro die) und der Versuchsgruppe II der Synthesehemmer "Allopurinol" (300 mg pro die) gegeben. Die Nachbeobachtungsperiode (mit modifizierter Formeldiät und RNS-Zulage wie in Vorlaufperiode und Versuchsperiode) dauerte vom zweiundzwanzigsten bis einschließlich fünfundzwanzigsten, also letzten Versuchstag.

3) Versuchsdurchführung

a) Sammlung des Urins

Die Sammlung des Urins begann am ersten Versuchstag um sieben Uhr morgens. Kurz vor sieben Uhr wurde (soweit nötig) die Blase entleert und der Urin verworfen. Ab sieben Uhr des ersten Versuchstages wurde der Urin in 1-Liter-Plastikflaschen gesammelt bis zum nächsten Tag sieben Uhr morgens. Kurz vor sieben Uhr wurde die Blase jeweils nochmals entleert zum Sammelgut des vorhergehenden Tages, damit dann die Sammelperiode des nächsten Tages beginnen konnte. Um in den Urinflaschen eine zu starke Vermehrung der Bakterien zu verhindern, wurden in jede Flasche jeweils 5 ml Tuluol gegeben. Außerdem waren die Versuchspersonen dazu angehalten, die Urinflaschen möglichst im Freien aufzubewahren oder, wo dies nicht

möglich war, im Kühlschrank (zur Vermeidung einer bakteriellen Uricolyse). Infolge der kühlen Jahreszeit - der Versuch fand statt vom 21. Januar 1974 bis zum 15. Februar 1974 - war die Aufbewahrung im Freien recht günstig, bis die Urinflaschen abgeliefert werden konnten. Dies erfolgte in der Regel jeden zweiten oder dritten Tag, wenn die Versuchspersonen zur Blutabnahme kommen mußten. Die täglichen Urinvolumina pro Versuchsperson und Tag schwankten im Verlaufe des Versuches maximal zwischen 670 ml und 3 060 ml. Die Versuchsteilnehmer wurden immer wieder dazu angehalten, viel zu trinken, um bei hohem Harnzeitvolumen die eventuellen Sammelfehler möglichst gering zu halten und eine gute Lösung der Urate im Harn zu gewährleisten.

b) Diät - Berechnung der Kalorienbedürfnisse

Die Körperoberfläche wurde jeweils mittels Körpergröße und -gewicht der jeweiligen Versuchsperson anhand des Nomogramms nach D. und E.F. DU BOIS [7] bestimmt. Aus der Körperoberfläche sowie den Angaben aus Alter und Geschlecht wurde nach den Angaben von BOOTHBY und DU BOIS [5] der Grundumsatz pro Person und Tag (siehe dazu Tabelle 1) errechnet.

Der Grundumsatz wurde mit einem Umrechnungsfaktor (1,6) multipliziert, um den Umsatz an Kalorien bei leichter Arbeit zu erhalten. Die Versuchspersonen waren bis auf eine Ausnahme (Schwesternschülerin) Studenten, bei welchen sich der tägliche Arbeitsaufwand hauptsächlich aus leichterer Tätigkeit (Vorlesungen, Schreibtischarbeit, Lernen usw.) zusammensetzte.

Speiseplan der Hipp-Fertiggerichte (Mo u. Die)

Montag

Nr.	Bezeichnung	Purin-N [mg]	Eiweiß [g]	kcal	Fett [g]	kcal	KH ₇ [g]	kcal	kcal insgesamt
605	Geflügelcremesuppe	10	8,9	36,49	10,0	93,00	3,3	13,53	143,02
633	Huhn in Reis und Erbsen	51	24,0	98,40	10,0	93,00	24,0	98,40	289,80
660	Pfirsichkompott	0	0,6	2,46	0,4	3,72	17,3	70,93	77,11
643	Rindfleischklößchen in Tomaten und Eierhähnchen	18	16,1	66,04	9,8	94,14	25,0	102,50	259,65
insgesamt		79		203,36		280,86		285,36	769,58
Anteil an den Gesamtkalorien in %				26,42		36,95		37,08	

Dienstag

606	Tomatencremesuppe	11	2,8	11,48	4,1	38,13	15,3	62,73	112,34
648	Rindfleisch nach Jägerart	40	25,2	103,32	9,6	89,28	21,3	87,33	279,93
665	Orangencreme mit Mandarinen	0	3,3	13,53	1,0	9,30	24,4	100,04	122,87
645	Hähnchen in Curry-Reis	36	18,6	76,26	5,6	52,08	19,8	81,18	208,52
insgesamt		87		204,59		188,79		331,28	724,66
Anteil an den Gesamtkalorien in %				28,23		26,05		45,71	

Speiseplan der Hipp-Fertig-Gerichte (Mi, Do u. Frei)

Nr.	Bezeichnung	Purin-N [mg]	Eiweiß [g]	Kcal	Fett [g]	Kcal	KH [g]	kcal	Kcal insgesamt
623	Altdeutscher Hühnertopf	27	14,6	59,06	16	44,88	9,9	40,59	115,33
647	Halbfleischbällchen in Curryreis	18	13,0	53,30	14,0	130,20	21,9	89,79	273,29
661	Obstsalat	0	0,5	2,05	0,5	4,65	21,4	87,74	94,44
649	Rindfleisch in feinem Gemüse	41	33,2	136,12	6,5	60,45	16,5	67,65	264,22
insgesamt		86	251,33			210,18		285,77	747,28
Anteil an den Gesamtkalorien in %			33,63			28,13		38,24	
636	Pasta asciutta	6	16,0	65,60	5,0	46,50	27,0	110,70	222,80
645	Hühnchen in Curryreis	36	18,6	76,26	5,6	52,08	19,8	81,18	209,52
660	Pfirsichkompott	0	0,6	2,46	0,4	3,72	17,3	70,83	77,11
650	Wildbret mit Spätzle	45	32,4	132,84	9,9	92,07	18,0	73,80	298,71
insgesamt		87	277,16			194,37		336,61	808,14
Anteil an den Gesamtkalorien in %			34,30			24,05		41,65	
623	Altdeutscher Hühnertopf	27	14,6	59,06	16	44,88	9,9	40,59	115,33
648	Rindfleisch nach Jägerart	40	25,2	103,32	9,6	89,28	21,3	87,33	279,93
665	Orangencreme mit Mandarinen	0	3,3	13,63	1,0	9,30	24,4	100,04	122,87
643	Rindfleischbällchen in Tomaten und Eierhörnchen	18	16,1	66,01	9,8	91,14	25,0	102,50	259,65
insgesamt		85	242,32			204,60		330,46	777,78
Anteil an den Gesamtkalorien in %			31,21			26,31		42,49	

Mittwoch

Donnerstag

Freitag

Speiseplan der Hipp-Fertig-Gerichte (Sa u. So)

Samstag

Nr.	Bezeichnung	Purin-N [mg]	Eiweiß [g]	Kcal	Fett [g]	Kcal	HH [g]	Kcal	Kcal insgesamt
601	Gulaschsuppe	12	11,8	48,38	3,0	27,90	12,0	49,20	125,48
633	Huhn in Reis und Erbsen	51	24,0	98,40	10,0	93,00	24,0	98,40	289,80
664	Weincreme mit Pfirsichen	0	3,0	12,30	4,0	9,30	22,2	91,02	112,62
647	Kalbfeischbällchen in Curryreis	18	13,0	53,30	11,0	130,20	21,9	89,79	273,29
insgesamt		81		212,38		260,40		328,41	801,19
Anteil an den Gesamtkalorien in %				26,51		32,50		41,00	

Sonntag

636	Pasta asciutta	6	16,0	65,60	5,0	46,50	27,0	110,70	222,80
649	Rindfleisch in feinem Gemüse	41	33,2	136,12	6,5	60,45	16,5	67,65	264,22
661	Obstsalat	0	0,5	2,05	0,5	4,65	21,4	87,74	94,44
648	Rindfleisch nach Jägerart	40	25,2	103,32	9,6	89,28	21,3	87,33	279,93
insgesamt		87		307,09		200,88		353,42	861,39
Anteil an den Gesamtkalorien in %				35,65		23,32		41,03	

Zusammensetzung und Grob-Analyse des Müesli

Menge g	Bestandteile	Proteine Gramm	Proteine Kcal	Fett Gramm	Fett Kcal	Kohlenhydrate Gramm	Kohlenhydrate Kcal	Kcal insgesamt
100	Äpfel	0,30	1,230	0,30	2,790	12,10	49,610	53,630
15	Haselnüsse	2,09	8,569	9,27	86,211	1,89	7,749	102,529
50	Haferflocken	6,90	28,260	3,30	30,690	33,02	135,382	194,332
25	Linio-Öl	-	-	25,00	232,500	-	-	232,500
275	Magermilchsprühpulver	90,75	372,075	2,01	18,670	129,25	529,925	920,670
25	Hyperprotidine	23,00	94,300	-	-	-	-	94,300
25	Maltodextrin 19	-	-	-	-	23,63	96,863	96,863
515			504,434 (Δ 29,7 %)		370,861 (Δ 21,9 %)		819,529 (Δ 48,4 %)	1.694,823

Grob-Analyse des Vollkornbrotes (Batscheider)

Menge	Purin-N	Proteine	Fett	Kohlenhydrate	Kcal
60 g Δ 2 Scheiben	-	4,38 g Δ 13,19 %	0,72 g Δ 4,91 %	27,20 g Δ 81,9 %	136,740

c) Diät - Zusammenstellung und Richtlinien

1) Getränke

Bei der modifizierten Formeldiät waren die Kalorienmengen pro Person und Tag genau berechnet und es sollten außer den verabreichten Speisen keine weiteren Kalorien in Getränken zugeführt werden! Aus diesem Grunde waren als Getränke nur erlaubt: Alle Kräutertees mit Ausnahme von harntreibenden (z.B. Wacholder usw.), Mineralwasser, Leitungswasser, Kaffee (ohne Milch oder Sahne), Schwarztee - und als Süßmittel waren nur Süßstoffe erlaubt (z.B. Assugrin u.a.) - kein Zucker!

Nicht erlaubte Getränke waren:

Fruchtsäfte und Fruchtsaftgetränke sowie andere kalorienträchtige Getränke, ebenso alkoholische Getränke jeder Art. Das einzige kalorienhaltige Getränk, das während des Versuches eingenommen werden sollte und durfte, war ein Vitamin-Brause-Getränk, das sich die Versuchspersonen selbst zubereiten konnten; und zwar bekamen sie pro Tag ein bis zwei Brausetabletten eines Multi-Vitamin-Präparates (Supradyn von LA ROCHE) mit einem Gehalt von 1,5 g Zucker pro Tablette. Wegen des geringen Vitamingehaltes der Formeldiät mußte dieses Vitaminpräparat als vorbeugende Maßnahme gegeben werden.

2) Feste Speisen

Die Versuchspersonen durften außer den vorgeschriebenen Speisen, die sie unbedingt zu sich nehmen mußten, keine anderen Nahrungsmittel zu sich nehmen. Erlaubt waren nur alle herkömmlichen Würzmittel in geringen Mengen zu den Gerichten mit Ausnahme der verschiedenen Zubereitungsformen von Maggiwürzen.

Die Diät setzte sich zusammen aus:

- 2.1) den standardisierten Fertigpräparaten der Firma Hipp,
- 2.2) vier Scheiben groben Vollkornbrotess pro Tag von Batscheider, die jeweils zu den Hauptmahlzeiten gegessen werden sollten,
- 2.3) einem Bircher-Müesli, das die fehlenden Kalorien anhand von Proteinen, Fett und Kohlenhydraten zuführen sollte (abgestimmt auf den Bedarf jeder Versuchsperson).

Die Analyse der Hipp-Fertiggerichte ist aus den Tabellen 2, 3 und 4 ersichtlich.

Die Analyse des Bircher-Müeslis und dessen Grobanalyse sowie die des groben Vollkornbrotess von Batscheider ist aus Tabelle 5 ersichtlich.

d) Diät - Zusammenstellung

Als Grundgerüst der Formeldiät sollten Fertiggerichte mit standardisiertem Inhalt dienen. Dies wurde mit den Fertiggerichten der Firma Hipp, Pfaffenhofen, erreicht. Hieraus ergaben sich noch Kaloriendefizite, die durch eine Art "Bircher-Müesli" gedeckt werden sollten, was in sich den Vorteil barg, daß man dem unterschiedlichen Kalorienbedarf der einzelnen Personen Rechnung tragen konnte bei der Einwaage des Müeslis.

Bei der Zusammenstellung des Hipp-Speisenplanes stellte sich uns die Forderung, eine möglichst konstante Purin-N-Zufuhr über die einzelnen Wochentage zu erreichen, andererseits aber doch eine Abwechslung in den ohnehin eintönigen Speisenplan zu bringen. Die Purin-N-Mengen pro Tag schwankten maximal zwischen 79 mg und 87 mg, Mittelwert also 84,5 mg,

W O C H E N - S P E I S E P L A N

	MONTAG	DIENSTAG	MITTWOCH	DONNERSTAG	FREITAG	SAMSTAG	SONNTAG
FRÜHSTÜCK	Müesli	Müesli	Müesli	Müesli	Müesli	Müesli	Müesli
MITTAGESSEN	Geflügelcremesuppe	Tomatensuppe	Altdeutscher Hühnertopf	Pasta asciutta	Altdeutscher Hühnertopf	Gulaschsuppe	Pasta asciutta
	Huhn in Reis und Erbsen	Rindfleisch "Jägerart"	Kalbfleischbällchen in Curryreis	Hühnchen in Curryreis	Rindfleisch "Jägerart"	Huhn in Reis und Erbsen	Rindfleisch in feinem Gemüse
NACHMITTAG-ESSEN	Pfirsichkompott	Orangencreme mit Mandarinen	Obstsalat	Pfirsichkompott	Orangencreme mit Mandarinen	Weindrem mit Pfirsichen	Obstsalat
	Müesli	Müesli	Müesli	Müesli	Müesli	Müesli	Müesli
ABENDESSEN	Rindfleischbällchen in Tomaten und Eierhörnchen	Hühnchen in Curryreis	Rindfleisch in feinem Gemüse	Wildbret mit Spätzle	Rindfleischklößchen in Tomaten und Eierhörnchen	Kalbfleischbällchen in Curryreis	Rindfleisch "Jägerart"

was aus Tabelle 2, 3 und 4 zu ersehen ist.

Der Purin-N-Gehalt der Fertiggerichte wurde nach den Angaben von SCHÖLLNER, COUCE und WIDDOWSON [29] nach der Frischfleischeinwaage (Angaben des Herstellers) berechnet. Zur Berechnung wurden von den Herstellerangaben nur $\frac{4}{5}$ zur Berechnung herangezogen, um die immer im Gefäß zurückbleibenden Restmengen auszugleichen.

Die vier Scheiben groben Vollkornbrottes waren ebenfalls ein gewisses Zugeständnis an die Versuchspersonen wegen der sonstigen Eintönigkeit; denn die Fertiggerichte und das Müesli boten so viel wie keine Gelegenheit zum Kauen und unsere Versuchspersonen waren noch junge Leute mit kaufreudigem Gebiß.

Die ausgleichende Ergänzung nach den individuellen Erfordernissen bezüglich Kalorienträger sollte das Müesli darstellen. Eine Zusammenstellung der verabreichten Tagesmengen an Müesli für die einzelnen Personen mit Angabe des Müesli-Trockengewichtes und des Gewichtes mit 40 % Wasserzusatz findet sich in Tabelle 6.

Nach den Berechnungen von Seite vierzehn und den Angaben des Herstellers der Hipp-Fertiggerichte ergab sich ein Kaloriendefizit, von dem ein konstanter Betrag durch das Vollkornbrot gedeckt wurde, der grössere Teil jedoch den individuellen Bedürfnissen angepaßt werden mußte.

Eine Übersicht mit den Mittelwerten in kcal der einzelnen Diätbestandteile findet sich in Tabelle 7. Tabelle 8 zeigt dann die individuellen Kalorienbedürfnisse, die durch das Müesli gedeckt werden mußten. Außerdem ist in Tabelle 8 noch der Vollkornbrot-

anteil hinzugefügt, der an jedem Tage konstant blieb.

M E R K B L A T T

1) DIÄT

Sie setzt sich zusammen aus einem Bircher-Müesli, Hipp-Fertiggerichten und Vollkornbrot. Es handelt sich hierbei um eine purinarme, kalorienmäßig genau auf den Bedarf eines jeden Versuchsteilnehmers abgestimmte Diät. Um die relative Schwankungsbreite der durch die Diät zugeführten Purinmenge herabzusetzen und um somit ein Einpendeln der Harnsäurewerte auf ein konstantes Ausgangsniveau zu ermöglichen, wird täglich aus Hefe gewonnene RNS zugeführt.

Zeitangabe der Mahlzeiten

Frühstück:	8.00 - 10.00 (auf jeden Fall erst nach der Blutabnahme!) "Bircher-Müesli"
Mittagessen:	12.00 - 14.00 Hipp-Gerichte + zwei Scheiben Voll- kornbrot
Nachmittagessen:	16.00 - 18.00 "Bircher-Müesli"
Abendessen:	19.00 - 21.00 Hipp-Gericht + zwei Scheiben Voll- kornbrot

Die täglichen Müesliportionen sind in mit Namen und Datum versehenen Milchtüten abgepackt. Welche Hipp-Gerichte jeweils gegessen werden, ist aus dem Speiseplan ersichtlich. Es ist wichtig, daß alles aufgegessen wird. Die Speisen können mit den üblichen Gewürzen, außer mit Maggi-Würze, nachgewürzt werden. Zusätzlich darf nichts gegessen werden. Flüssigkeitszufuhr n u r in

Form von kalorienfreien Getränken (keine Limonaden, keine gezuckerten Tees oder Kaffee, auch keine diuretisch wirksamen Tees, k e i n Alkohol!), erlaubt sind ungezuckerter oder mit Süßstoff gesüßter Tee oder Kaffee, Mineralwasser etc.

RNS-Einnahme

- a) 8.00 - 9.00 (n a c h der Blutabnahme!)
- b) 12.00
- c) 16.00
- d) 20.00

Diese Zeiten sollten möglichst genau eingehalten werden. Es werden jeweils 4 Oblatenkapseln, also t ä g - l i c h i n s g e s a m t 1 6 S t ü c k e eingenommen, die jeder Versuchsteilnehmer für die einzelnen Tage getrennt in mit dem Datum der Einnahme versehenen Gläsern erhält.

2) BLUTABNAHME

a) Termine:	Montag	21. I. 1974
	Mittwoch	23. I. 1974
	Freitag	25. I. 1974
	Montag	28. I. 1974
	Mittwoch	30. I. 1974
	Donnerstag	31. I. 1974
	Freitag	1. II. 1974
	Samstag	2. II. 1974
	Sonntag	3. II. 1974
	Montag	4. II. 1974
	Mittwoch	6. II. 1974
	Freitag	8. II. 1974
	Samstag	9. II. 1974
	Montag	11. II. 1974
	Mittwoch	13. II. 1974
	Freitag	15. II. 1974

b) Sonstiges:

Jeweils in nüchternem Zustand zwischen 7.00 und 8.30 in das Labor, Schillerstraße 37, der med. Poliklinik kommen. Dabei bitte auch das Gewicht kontrollieren und in die Wiegekarte eintragen. Anschließend Verteilung des Essens, der RNS und der Urinflaschen.

3) URINSAMMELN

Es muß der g e s a m t e Urin jeweils von 7.00 früh eines Tages bis um die gleiche Zeit des nächsten Tages während des ganzen Versuchs gesammelt werden (24 Stunden-Urin). Dazu erhält jeder Versuchsteilnehmer pro Tag zwei mit Datum und Namen versehene 1 Liter-Flaschen. Um eine genaue Auswertung zu ermöglichen, ist es nötig so viel Flüssigkeit zu trinken, daß die ausgeschiedene Menge täglich etwa 1,5 bis 2 Liter beträgt. Der gesammelte Urin wird jeweils bei der Blutabnahme abgeliefert.

Durchschnittlicher Kalorienbedarf [kcal] der Versuchspersonen in Darstellung der Diät-Einzel-Bestandteile

	Montag	Dienstag	Mittwoch	Donnerstag	Freitag	Samstag	Sonntag	Wochenmittel
Gesamt- kalorien	2.555,980	=	=	=	=	=	=	2.555,980
Durch Hipp- Gerichte gedeckt	775	725	765	805	795	825	855	792
Restkalorien	1.780,980	1.830,980	1.790,980	1.750,980	1.760,980	1.730,980	1.700,980	1.765,839
Durch Vollkorn- brot (vier Schei- ben) gedeckt	273,480	=	=	=	=	=	=	273,480
Durch Müsli zu deckende Kalorien pro Person (Tagesmittel)	1.507,500	1.557,500	1.517,500	1.477,500	1.487,500	1.457,500	1.427,500	1.480,357

Mittelwert: Gesamtkalorienbedarf pro Person und Woche an Müsli 10.431,500 kcal

Mittelwert: Gesamtkalorienbedarf pro Person und gesamtem Versuchsablauf 37.255,355 kcal

Durch Müesli gedeckter Kalorienbedarf in Kcal

VP Nr.	Montag	Dienstag	Mittwoch	Donnerstag	Freitag	Samstag	Sonntag
1	1081,804	1126,724	1104,104	1043,244	1073,604	1050,194	989,994
2	1126,962	1171,882	1149,262	1088,402	1118,762	1095,352	1035,152
3	1582,655	1627,575	1604,955	1544,095	1574,455	1551,045	1490,845
4	1557,580	1602,500	1579,880	1519,020	1549,380	1525,970	1465,770
5	1640,639	1685,559	1662,939	1602,079	1632,439	1609,029	1548,829
6	1512,988	1557,918	1535,298	1474,438	1504,798	1481,388	1421,188
7	2047,986	2092,906	2070,286	2009,426	2039,786	2016,376	1956,176
8	1771,046	1815,966	1792,346	1732,486	1762,846	1739,436	1679,236
9	1453,554	1498,474	1475,854	1414,994	1445,354	1421,944	1361,744
10	1100,006	1144,926	1122,306	1061,446	1091,806	1068,396	1008,196

Durch Vollkornbrot gedeckter Kalorienbedarf

Konstant pro Versuchsperson und Tag 4 Scheiben Vollkornbrot $\triangleq 273,480 \text{ Kcal}$

Gewichtstabelle der Versuchspersonen (in kg)

Versuchung V.P.	Nr. Name Nr.	24.1.	23.1.	25.1.	22.1.	30.1.	1.2.	2.2.	3.2.	4.2.	6.2.	8.2.	9.2.	11.2.	13.2.	15.2.74
		1	3	5	8	10	12	13	14	15	17	19	20	22	24	26
E.G.	1 ♀	55,5	54,0	54,5	54,0	53,5	54,0	54,2	53,8	53,5	54,0	53,5	54,0	53,6	53,8	53,5
E.S.	2 ♀	57,5	57,5	57,7	57,8	58,1	58,2	57,9	58,1	58,0	57,6	57,4	57,3	56,0	56,3	56,0
H.D.	3 ♀	64,0	63,0	63,5	63,5	63,0	63,0	63,0	63,0	63,0	63,0	63,0	62,5	63,0	63,0	63,0
H.M.	4 ♀	64,5	65,5	65,2	65,1	65,0	65,3	65,0	65,2	65,1	65,4	65,2	65,8	65,6	65,3	65,4
H.B.	5 ♀	65,8	65,6	65,6	65,8	65,9	65,6	65,8	65,7	66,2	66,0	66,8	65,2	65,3	65,8	66,2
F.D.	6 ♀	60,5	61,8	61,8	61,8	61,8	61,6	61,6	61,4	61,5	61,3	61,2	61,1	60,2	60,8	61,3
M.M.	7 ♀	83,5	83,5	83,8	82,5	83,7	83,5	84,0	83,9	83,2	83,5	84,0	83,7	83,2	83,6	83,8
H.B.	8 ♀	67,3	67,8	67,7	68,1	67,5	67,7	67,4	67,3	67,4	67,3	67,5	67,0	67,5	67,0	66,7
B.P.	9 ♀	61,5	61,0	61,5	60,5	61,2	61,0	60,8	60,3	61,0	60,5	—	—	—	—	—
O.T.	10 ♀	57,5	58,0	57,5	58,0	57,5	57,5	57,5	57,5	58,0	58,0	58,0	57,5	57,0	57,0	57,0

e) Diät - Sonstige Erfordernisse

1) Körpergewicht

Durch die genaue Berechnung (anhand von genormten Größen) des individuellen Kalorienbedarfes wurde versucht, das Körpergewicht der Versuchspersonen über die Dauer des Versuches möglichst konstant zu halten, um katabole oder auch stärkere anabole Stoffwechselvorgänge zu vermeiden, die zu falschen Resultaten in der Ausscheidung geführt hätten. Aus diesem Grunde wurde bei jeder Blutabnahme bzw. Urinablieferung das Körpergewicht kontrolliert und in eine eigens dazu ausgegebene Wiegekarte eingetragen, die dann am Ende des Versuches von uns ausgewertet wurde (siehe dazu Tabelle 9).

Die Körpergewichtsschwankungen betrugen im Mittel $\pm 0,5$ kg (maximal 1,0 kg).

2) Medikamente

Aus zwei Gründen konnte sich eine Notwendigkeit ergeben, während des Versuches Medikamente einzunehmen:

- 2.1) Wegen der äußerst schlackenarmen Diät war die Gefahr einer möglichen Obstipation sehr leicht gegeben. Wo dieser Fall eintrat, wurde, in Übereinkunft mit dem betreuenden Arzt, ein mildes Laxans gegeben, um hier Abhilfe zu schaffen.
- 2.2) Die Zeit des Versuches fiel in die Wintermonate, in denen Erkältungskrankheiten sehr leicht auftreten. Während des Versuches wurde streng darauf geachtet, daß von den Versuchspersonen keinerlei Medikamente eingenommen wurden, die

die Versuchsergebnisse in irgendeiner Weise beeinflussen konnten. Eventuell benötigte Medikamente (z.B. Kopfschmerz- und allgemeine Schmerzmittel, Schlaftabletten usw.) durften die Betroffenen nur nach vorheriger Rücksprache mit dem behandelnden Arzt einnehmen. Wenn also eine Arzneimittelgabe unumgänglich war, so wurde vom verordnenden Arzt darauf geachtet, daß die betreffenden Pharmaka keine die Harnsäurerückresorption hemmende Wirkung hatten. Zu diesen Pharmaka, den sog. "Uricosurica", zählen z.B. Salicylsäure, Phenylbutazon und dessen Derivate, N-substituierte Sulfonamide, Vitamin-K-Antagonisten wie die bereits angeführte Salicylsäure sowie Cumarin und Phenylindandionderivate, Glycine, Azauridine, Benziodarone, Cortison usw.

Unsere Versuchspersonen nahmen während der gesamten Versuchsdauer keines von diesen Medikamenten ein, ebenso keine Analgetika. Eine einzige Ausnahme gab es jedoch, und zwar nahm eine Versuchsperson wegen starker Kopfschmerzen an den beiden letzten Versuchstagen "Aprocu" ein. Die einzigen Arzneimittel, die bei einigen Versuchspersonen intermittierend über mehrere Tage des Versuches gegeben werden mußten, waren das milde Laxans "Obstinol" und, wenn dieses in einigen Fällen versagte, "Agiolax".

2.3) Zusätzliches Vitaminpräparat

Die Versuchspersonen erhielten als vorbeugende Maßnahme und als Ergänzung zu der vitaminarmen Diät ein Multi-Vitamin-Präparat, und zwar "Supradyn" von LA ROCHE, von dem sie täglich eine Brausetablette nehmen sollten und bis zu zwei nehmen durften je nach Bedarf.

Wir benötigten also pro Tag und für die zehn Personen maximal zwanzig Brausetabletten und für die ganze Versuchszeit von fünfundzwanzig Tagen fünfhundert Brausetabletten, die freundlicherweise die Firma LA ROCHE (Schweiz) zur Verfügung stellte.

f) Purinstoffträger

1) Substanz

Verwendet wurde bei dem Versuch als Purinstoffträger hochgereinigte Ribonucleinsäure aus Hefe der Firma BIOCHEMICA BOEHRINGER in Tutzing.

Diese Ribonucleinsäure enthält die Nucleotide Adenosinmonophosphat (AMP), Guanosinmonophosphat (GMP), Cytidinmonophosphat (CMP) und Uridinmonophosphat (UMP) im Verhältnis 1 : 1 : 0,8 : 1. Daraus errechnet sich ein Purin-N-Gehalt von 114,4 mg pro 1 g RNS; in unserem Versuch also eine tägliche Purin-N-Zufuhr von 457,6 mg in Form von RNS aus Hefe. Die Purin-N-Zufuhr durch die modifizierte Formeldiät betrug im Mittel 84,5 mg (Tagesschwankungen maximal zwischen 79 mg und 87 mg). Es ergab sich also eine durchschnittliche tägliche Gesamt-Purin-N-Zufuhr von 542,1 mg $\pm$ 4 mg.

2) Einnahme

Die in Pulverform vorliegende Ribonucleinsäure wurde in Oblatenkapseln zu je 250 mg pro Kapsel verpackt. Pro Tag und Versuchsperson mußten 4 g RNS eingenommen werden; es ergab sich also eine Anzahl von 16 Kapseln pro Tag und Person, die in einem mit Datum des Einnahmetages versehenen Glas ausgegeben wurden. Die RNS sollte zu vier über den Tag verteilten Zeitpunkten eingenommen werden. Um einen gleichmäßigen Spiegel im Organismus bzw. einen die Meßergebnisse nicht

verfälschenden Effekt zu erzielen, mußten folgende Zeiten der Einnahme eingehalten werden:

vier Kapseln um 8 Uhr (jedoch erst nach der Blutabnahme)

vier Kapseln um 12 Uhr

vier Kapseln um 16 Uhr

vier Kapseln um 20 Uhr.

g) Einnahme der Harnsäuresynthesehemmer "Allopurinol" bzw. "Thiopurinol"

Nachdem die Versuchspersonen in zwei Gruppen aufgeteilt wurden, sollte in der Versuchsperiode (12. - 21. Tag) ein Synthesehemmer gegeben werden.

Die Einteilung der beiden Versuchsgruppen I und II erfolgte nach der Auswertung des Ausscheidungsproduktes Harnsäure, in erster Linie aber nach den Harnsäureplasmaspiegeln, und nach den Daten der Versuchspersonen. Es sollten zwei möglichst gleiche Versuchsgruppen gebildet werden in Bezug auf Anstieg der Harnsäurespiegel und die Parameter von Körpergröße, Gewicht usw.

Durch die ungerade Zahl der weiblichen Teilnehmer ergab es sich, daß in einer Gruppe zwei weibliche Versuchsteilnehmer standen, was aber durch die entsprechende Verteilung der männlichen Teilnehmer ausgeglichen wurde.

In der Versuchsperiode, also ab dem 12. Versuchstag, wurde Versuchsgruppe I der Synthesehemmer "Thiopurinol" und der Versuchsgruppe II der Synthesehemmer "Allopurinol" gegeben. Die Versuchsperiode dauerte bis einschließlich 21. Tag, insgesamt also zehn Tage. Während dieser zehn Tage mußte jede Person pro Tag 300 mg von einem der beiden Synthesehemmer

(Gruppe I "Thiopurinol" und Gruppe II "Allopurinol") einnehmen. Die drei Tabletten sollten täglich zum Frühstück eingenommen werden, und zwar nicht auf einmal, sondern über die Müeslimahlzeit verteilt, um einer Magenreizung durch den Synthesehemmer vorzubeugen. Die Einnahme der drei Tabletten (zu je 100 g) zu einem Zeitpunkt hatte zum Ziele, einem Vergessen der Einnahme vorzubeugen.

Für die ganze Versuchsperiode (also zehn Tage) benötigten wir von den Thiopurinoltabletten und Allopurinoltabletten jeweils pro Person und Tag drei Stück, für die Gruppe ($n = 5$) also je fünfzehn Stück und für die Periode zu zehn Tagen je einhundertfünfzig Stück. Es wurde jeder Versuchsperson zu Beginn der Versuchsperiode eine Originalpackung des betreffenden Synthesehemmers ausgehändigt.

4) Zusammenstellung der benötigten Materialien zur Formeldiät

Bei der Planstellung zu diesem Versuch ergaben sich eine Anzahl von Vorbereitungsarbeiten, die zum reibungslosen Ablauf des Versuches unbedingt vor Versuchsbeginn abgeschlossen werden mußten. Es ergaben sich nach der Themenstellung des Versuches folgende Überlegungen.

a) Was benötigen wir an Nahrungsmitteln zur Formeldiät?

Das Grundgerüst bildeten die standardisierten Fertiggerichte der Firma Hipp aus Pfaffenhofen. Bei einer Versuchsperiode von fünfundzwanzig Tagen und einem Versuchsgut von zehn Personen sowie täglich vier Gerichten (siehe Übersicht 2) ergab sich insgesamt eine Anzahl von $25 \cdot 10 \cdot 4 = 1000$ Gerichten.

Davon entfielen auf Gericht

Nr 601 "Gulaschsuppe" $3 \cdot 10 = 30$

Nr 605 "Geflügelcremesuppe" $3 \cdot 10 = 30$

Nr 606 "Tomatencremesuppe"	4*10 =	40
Nr 623 "Altdeutscher Hühnertopf"		
	4*10 + 3*10 =	70
Nr 633 "Huhn in Reis und Erbsen"		
	4*10 + 3*10 =	70
Nr 636 "Pasta ascutta"	4*10 + 3*10 =	70
Nr 643 "Rindfleischklößchen in Tomaten und Eierhörnchen"	4*10 + 3*10 =	70
Nr 645 "Hühnchen in Curryreis"	4*10 =	40
Nr 647 "Kalbfleischbällchen in Curryreis"		
	4*10 + 3*10 =	70
Nr 648 "Rindfleisch nach Jägerart"		
	4*10 + 3*2*10 =	100
Nr 649 "Rindfleisch in feinem Gemüse"		
	4*10 + 3*10 =	70
Nr 650 "Wildbret mit Spätzle"	4*10 =	40
Nr 660 "Pfirsichkompott"	4*2*10 =	80
Nr 661 "Obstsalat"	4*10 + 3*10 =	70
Nr 664 "Weincreme mit Pfirsichen"	3*10 =	30
Nr 665 "Orangencreme mit Mandarinen"		
	4*10 + 3*10 =	70

Das ergab also insgesamt 660 Hauptgerichte und
250 Nach- bzw. Süßspeisen.

Als Ergänzungskost zu den Fertiggerichten

- 1) grobes Vollkornbrot (in Scheiben zu je 500 g abgepackt) der Firma Batscheider aus Deisenhofen bei München.

Es wurden pro Versuchsperson und Tag vier Scheiben Vollkornbrot (eine Scheibe = 30 g) gegeben, bei fünfundzwanzig Versuchstagen und zehn Personen sind das also $10 \cdot 4 \cdot 25 = 1\,000$ Scheiben = 30 000 g, entspricht 30 kg oder sechzig Originalpackungen zu je 500 g.

- 2) modifiziertes Birchermüesli mit einem Gesamtbedarf von 113,673 kg Trockengewicht, daraus ergeben sich anteilmäßig für die einzelnen Bestandteile nach Tabelle 5:

Apfel	19,4 %	22,2 kg
Haselnüsse	3,0 %	3,5 kg
Haferflocken	9,8 %	11,2 kg
Livio-Öl	4,8 %	5,5 kg
Magermilchsprühpulver	53,4 %	61,0 kg
Hypoprotedine	4,8 %	5,5 kg
Maltodextrine 19	4,8 %	5,5 kg

Äpfel, Haselnüsse, Haferflocken und Livio-Öl wurde durch Dauerauftrag (ebenso das Vollkornbrot) von einem Großkaufhaus bezogen. Das Magermilchsprühpulver (ebenso die Milchtüten) vom Milchhof Oberbayern in München. Die Hypoprotedine lieferte die Firma Gigos in Paris, vertrieben durch die Firma Nestle in der Schweiz.

Das Müesli wurde insgesamt viermal für sechs bzw. sieben Tage zubereitet und jeweils für zwei Tage ausgegeben (die restliche Menge für die vier oder fünf Tage wurde in einem Kühlraum aufbewahrt). Es ergaben sich notwendigerweise bei jeder Zubereitung Verluste beim Herrichten und Einwiegen. Aus diesem Grunde veranschlagten wir pro Zutat um 10 - 20 % mehr an Gewicht, je nach dem Abfüllgewicht der lieferbaren Originalpackungen.

- b) Was benötigen wir an sonstigen Mitteln?

Das Müesli konnten wir freundlicherweise in der Küche der medizinischen Poliklinik der Universität München zubereiten, was die Arbeit um einiges erleichterte, da uns sowohl eine große Küchenwaage, eine Schnitzelmaschine zur Zerkleinerung der Äpfel und Nüsse sowie eine große Rührmaschine zum Durchrühren der gesamten Müeslimasse zur Verfügung

standen. Damit das Müesli nicht zu fest wurde (im Verlaufe von einigen Tagen verstärkte sich diese Tendenz noch), setzten wir der Trockenmasse noch 40 % Wasser zu, was aus Tabelle 6 ersichtlich ist. Nach guter Durchmischung der ganzen Masse (Mischzeit etwa 20 bis 30 Minuten) wurde das Müesli in Milchtüten (gewachste Papiertüten) eingefüllt, die vorher mit Namen der Versuchsperson, Datum und entsprechend benötigter Tagesmenge beschriftet (Filzstift) wurde. In der Regel verteilten wir den Tagesbedarf einer Versuchsperson in zwei Tüten, da erstens meist eine Milchtüte nicht ausreichte und es zweitens für die Leute praktischer war, für den Morgen und den Nachmittag jeweils getrennt eine Tüte zu haben. Wir benötigten also insgesamt pro Versuchsperson und Tag zwei Milchtüten, somit für die Dauer von fünfundzwanzig Tagen und zehn Versuchspersonen $2 \cdot 10 \cdot 25 = 500$ Stück.

Zur Frischhaltung des Vollkornbrottes wurde dieses in Aluminiumfolien für jeden Tag und jede Versuchsperson eingepackt. Wir benötigten insgesamt zwei Rollen Aluminiumfolie (je 10 m), da wir immer für die letzten vier Scheiben Brot die Originalpackungen verwendeten.

Von der Ribonucleinsäure wurden pro Versuchsperson und Tag 4 g also insgesamt für zehn Personen und fünfundzwanzig Tage $4 \cdot 10 \cdot 25 \text{ g} = 1\,000 \text{ g}$ benötigt. Da das einzelne Einwiegen der RNS in Oblaten endlos gewesen wäre, wurden jeweils sechzehn Oblatenschüsselchen auf ein sauberes Blatt Papier gelegt, die Waage (METTELER-Analysenwaage) auf Null eingestellt und nun 4 g RNS in die Schüsselchen eingewogen. Was beim Einfüllen neben die Schüsselchen geraten war, wurde dann vom Papierblatt in diese

gegeben. Nach dem Abwiegen und Einfüllen wurden die Oblaten-Schüsselchen mit einem Oblaten-Deckel versehen und diese sechzehn Oblaten-Kapseln mit dem Inhalt von 4 g RNS in ein Schraubglas gegeben, das mit dem Datum des entsprechenden Versuchstages beschriftet wurde.

An Oblatenkapseln benötigten wir pro Tag und Versuchsperson jeweils sechzehn Schüsselchen und sechzehn Deckel für zehn Personen und fünfundzwanzig Tage also insgesamt $16 \cdot 10 \cdot 25 = 4\,000$ Schüsselchen und 4 000 Deckel.

An Gläsern für die jeweils sechzehn RNS-Kapseln wurden für zehn Versuchspersonen und fünfundzwanzig Versuchstage insgesamt $10 \cdot 25 = 250$ Gläser benötigt, da die Gläser aber wieder nach Entleerung zurückgegeben werden sollten, kamen wir mit einem Bedarf von 100 Stück aus.

III

HARNSÄUREBESTIMMUNG

1) Allgemeines

Die Bestimmung der Harnsäure im Urin wurde nach der Harnsäurebestimmungsmethode von PRAETORIUS und PAULSEN [25] in der Modifikation von ZÖLLNER [36] durchgeführt. Bei dieser enzymatischen Bestimmungsmethode wurde mit URICASE LÖWENS gearbeitet und die Messungen am UV-Photometer (Firma Zeiss, Württemberg) bei 293 Nanometer vorgenommen. Die Aktivität der Uricase wird in Einheiten (engl.: units) angegeben. Eine Einheit bedeutet die Enzymmenge, die unter festgesetzten Bedingun-

gen ein Mikrogramm Harnsäure pro Minute abzubauen vermag. Die von uns verwendete Uricase enthielt 75 Einheiten pro Ampulle.

2) Methodik und Prinzip

Durch die Einwirkung von Uricase wird Harnsäure in Allantoin umgewandelt. Gleichzeitig verschwindet die für die Harnsäure typische Absorptionsbande bei 293 Nanometer (siehe Abb. 2). Dieser Extinktionsabfall beträgt bei der Verwendung der unter 3) b) angegebenen Glycinpuffergebrauchslösung 0,075 (genauer - = 0,0745) für eine Harnsäurekonzentration von $1 \mu\text{g/ml}$ und eine Schichtdicke von 1 cm.

3) Zur Harnsäurebestimmung verwendete bzw. zubereitete Lösungen

- a) Glycinpufferstammlösung: 2/3 molar, pH 9,3
- b) Glycinpuffergebrauchslösung (500 ml) aus der Stammlösung (50 ml) unter Zugabe von Aqua bidestillata ad 500 ml
- c) Enzympräparat Uricase LÖWENS (75 units)
- d) Uricasestammlösung: Zum Inhalt einer Uricase-Trockenampulle wurden 0,25 ml der Puffergebrauchslösung gegeben, um darin die Enzymtrockensubstanz aufzulösen; anschließend bis zur Weiterverarbeitung fünfzehn Minuten gewartet.
- e) Uricasegebrauchslösung: Die gesamte Menge der Uricasestammlösung wurde mit Puffergebrauchslösung verdünnt. Wir verwendeten zu den Bestimmungen eine Verdünnung von 1 : 100, füllten also die Stammlösung mit Aqua bidest. ad 25 ml auf, was einer Aktivität von drei Einheiten pro ml entsprach. Diese Enzymmenge war weiterhin ausreichend für den enzymati-

Pipettierschema zur Harnsäurebestimmung im Urin und in der Standardlösung

2	(E)	(E')
1	(E)	(E')

Enzymeigenextinction:

Reihe 1: je 2ml Puffer-Gebrauchts-Lösung (durch Verdünnung 1:10 der 0,66 m Glycin-Puffer-Stammlösung pH 9,3)

Reihe 2: je 3ml Puffer-Gebrauchts-Lösung

2	○	○	(St)
1	○	○	(St)

Extinction des Standard:

Reihe 1: je 2ml Standard-Gebrauchts-Lösung

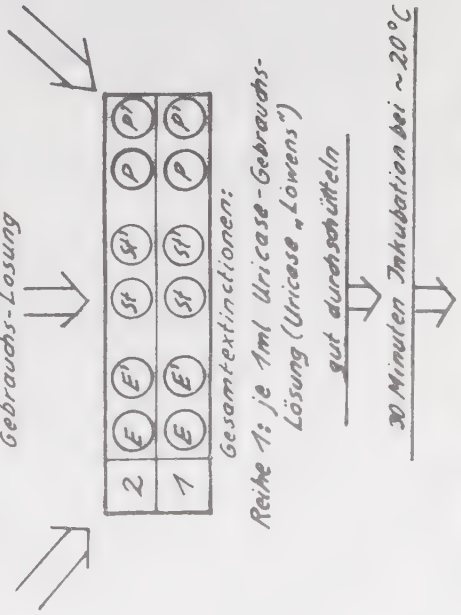
Reihe 2: je 2ml Standard-Gebrauchts-Lösung und 1ml Puffer-Gebrauchts-Lösung

2	○	○	○	○	(P)
1	○	○	○	○	(P)

Extinction der Probe:

Reihe 1: je 2ml verdünnter Urin (1:50)

Reihe 2: je 2ml verdünnter Urin (1:50) und 1ml Puffer-Gebrauchts-Lösung



2	(E)	(E')	(St)	(St)	(P)
1	(E)	(E')	(St)	(St)	(P)

Gesamtextinctionen:

Reihe 1: je 1ml Uricase-Gebrauchts-Lösung (Uricase "Löwen")

gut durchschütteln

30 Minuten Inkubation bei ~20°C

Photometrische Messung bei 283 mμ

schen Abbau. Nach den Angaben von ZÖLLNER [36] sollte die Eigenextinktion dieser Lösung in der Größenordnung zwischen 0,010 und 0,015 liegen; bei unseren Versuchen erwiesen sich diese Werte als Mittelwerte, denn es ergab sich eine Streuung von 0,009 bis maximal 0,028. Die Eigenextinktionen der Urin-case, die über den von ZÖLLNER angegebenen Werten lagen, dürften wohl auf Differenzen (Alter) in den einzeln verwendeten Chargen zurückzuführen sein, die sich durch eine Eintrübung bzw. Verfärbung des Enzyms bemerkbar machten.

4) Durchführung der Harnsäurebestimmung

a) Urinverdünnungen

0,2 ml des bereits vorverdünnten Harns (Vorverdünnung 1 : 2) wurden in 25 ml-Meßkölbchen mit Puffergebrauchslösung verdünnt ad 25 ml. Dies ergab insgesamt eine Urinverdünnung von 1 : 250, die bei der Berechnung berücksichtigt werden mußte.

0,2 ml einer Harnsäure-Standardlösung wurden ebenfalls in 25 ml-Meßkölbchen mit Puffergebrauchslösung verdünnt ad 25 ml.

b) Schematischer Ablauf

Abbildung 1 veranschaulicht schematisch den Ablauf der Harnsäurebestimmung im Urin.

1) Zur Bestimmung der Eigenextinktion des Enzyms wurden benötigt:

- 1.1) vordere Gläserreihe - zwei Gläser jeweils zur Doppelbestimmung
2 ml Puffergebrauchslösung
1 ml Uricasegebrauchslösung

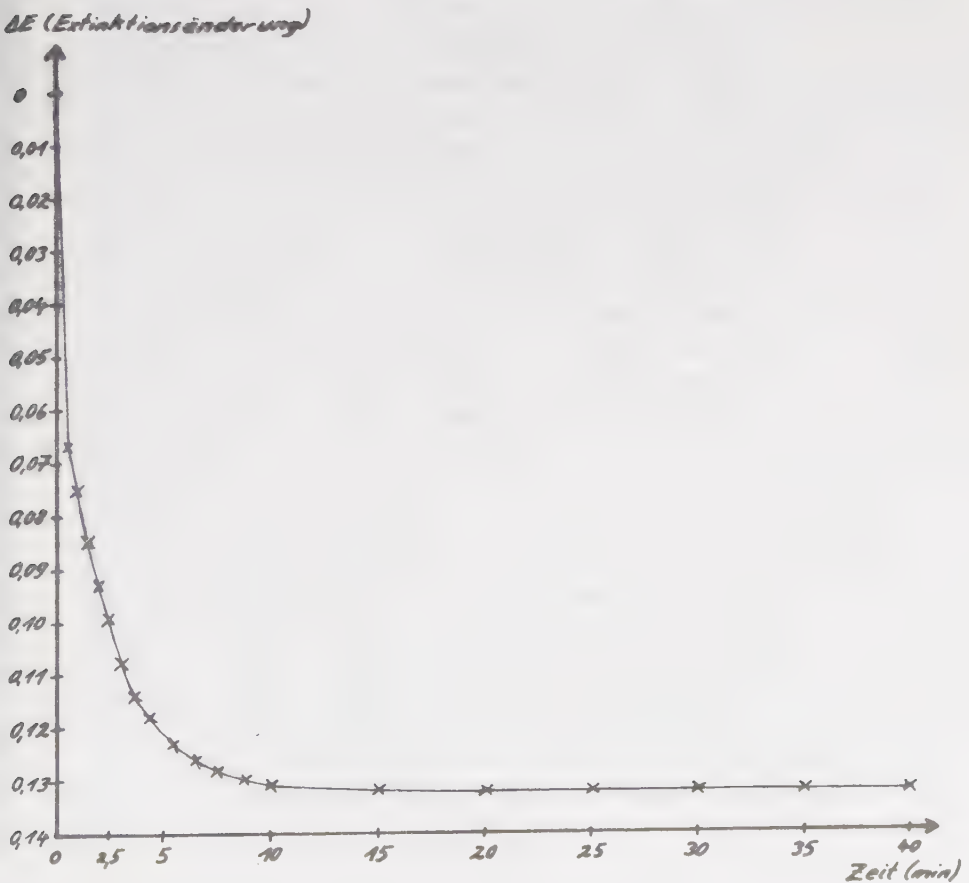
- 1.2) hintere Gläserreihe - zwei Gläser jeweils zur Doppelbestimmung

Zeitkurve für den Abbau von Harnsäure

Nach einer Zeit von etwa 20 Minuten ist beim Abbau von Harnsäure zu

Allantoin durch das Ferment Uricase ein steady state erreicht.

In mehreren Parallelversuchen ergab sich immer wieder der nämliche Verlauf dieser Zeitwirkkurve (d.h. steady state nach etwa 20 Minuten).



3 ml Puffergebrauchslösung

2) Zur Bestimmung der Extinktion bzw. des Extinktionsabfalls in der Standardlösung wurden benötigt:

2.1) vordere Gläserreihe - zwei Gläser jeweils für jeden Wert

2 ml verdünnter Standardlösung

1 ml Uricasegebrauchslösung

2.2) hintere Gläserreihe - zwei Gläser jeweils für jeden Wert

2 ml verdünnter Standardlösung

1 ml Puffergebrauchslösung

3) Zur Bestimmung der Extinktion bzw. des Extinktionsabfalls im Urin wurden benötigt:

3.1) vordere Gläserreihe - zwei Gläser jeweils für jeden Wert

2 ml verdünnten Urin

1 ml Uricasegebrauchslösung

3.2) hintere Gläserreihe - zwei Gläser jeweils für jeden Wert

2 ml verdünnten Urin

1 ml Puffergebrauchslösung

c. Arbeitsgang

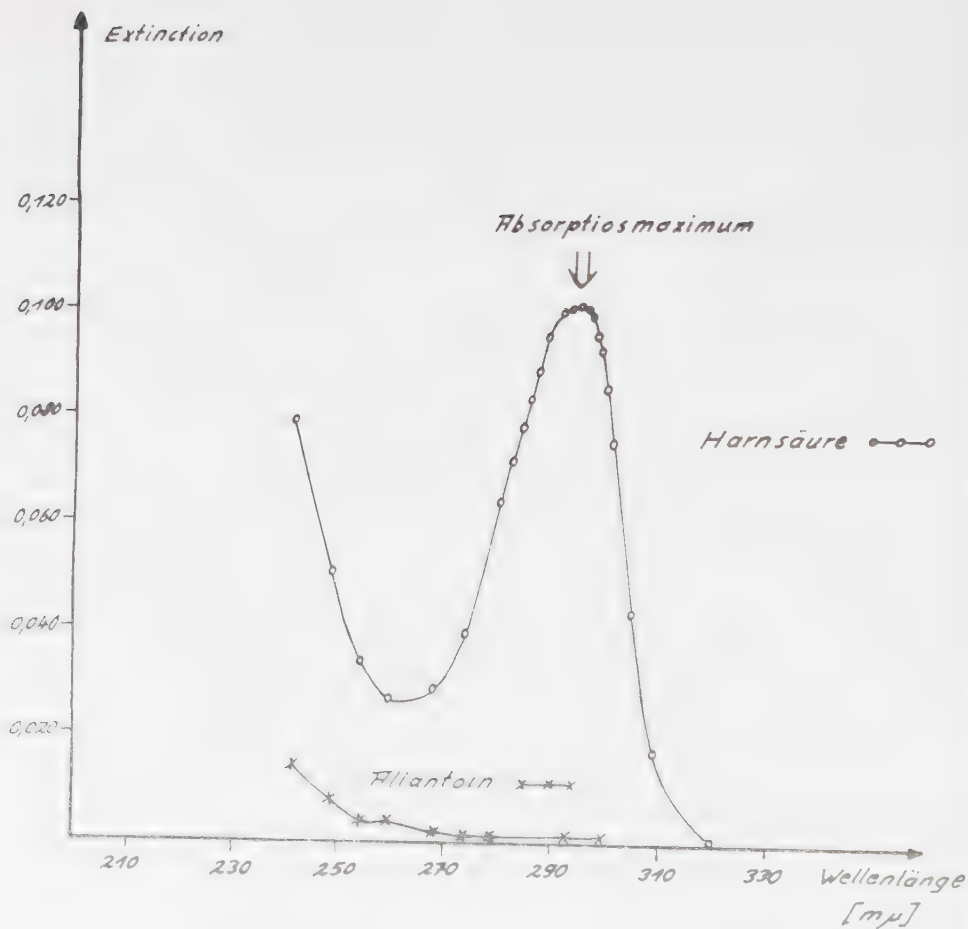
Im zeitlichen Ablauf wurde zunächst in alle Reagenzgläser der hinteren Reihe je 1 ml Puffergebrauchslösung gegeben. Dann wurden je 2 ml Puffergebrauchslösung in die hintere Reihe von b) - 1) und in die vordere Reihe von b) - 1) gegeben. Darauf erfolgte die Zugabe des Standards zu b) - 2), sodann die Zugabe der Urinverdünnung zu b) - 3). Nachdem in die bereitgestellten Reagenzgläser vorher Aufgeführtes einpipettiert war, wurde in die vordere Gläserreihe

je 1 ml der Uricasegebrauchslösung mit einer Eppendorf-Pipette eingebracht. Nach gutem Durchschütteln (bei 3 ml Inhalt im Reagenzglas war das von Hand sehr gut durchzuführen) wurde das Probegut bei Zimmertemperatur dreißig Minuten inkubiert. Diese Inkubationszeit war reichlich bemessen und nach unseren Vorversuchen die Reaktionszeit nach dieser Zeit voll abgelaufen, was Abbildung 3 deutlich zeigt. Um ganz sicher zu gehen, ließen wir den Ansatz immer fünfundvierzig Minuten stehen und schüttelten während dieser Zeit die Proben immer wieder kräftig durch.

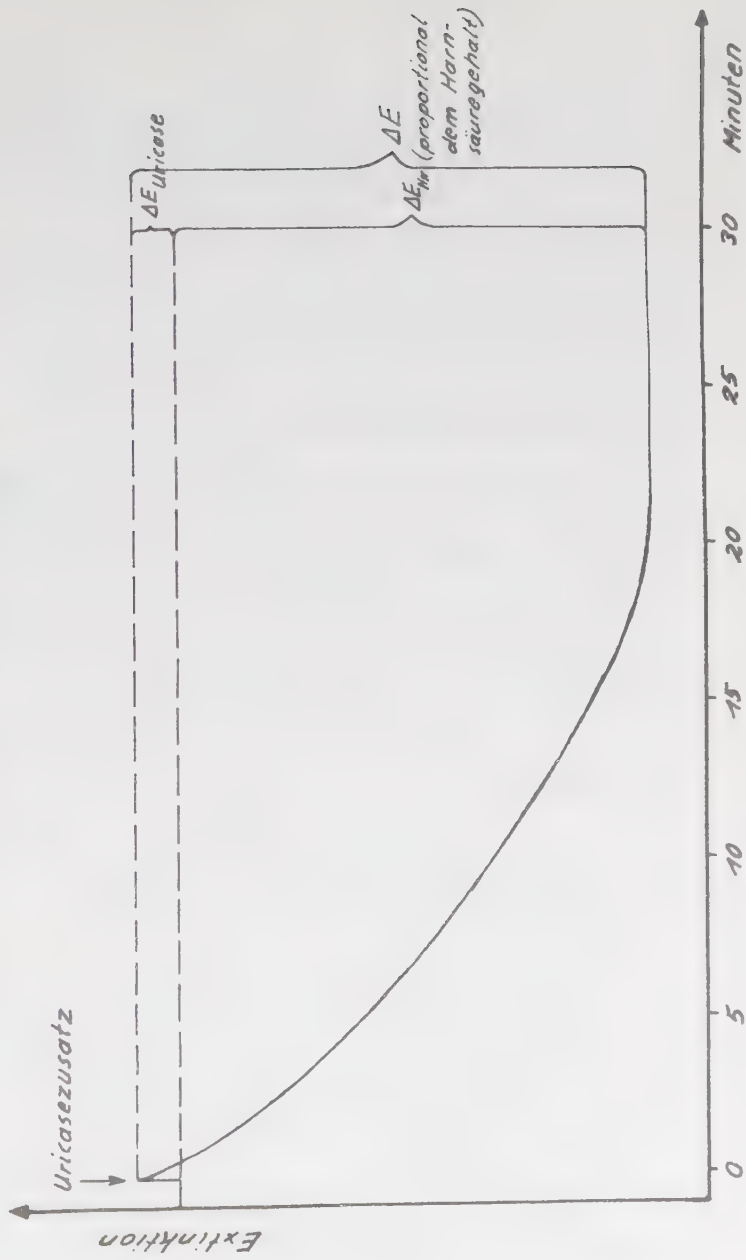
Die photometrische Messung erfolgte am Spektralphotometer (ZEISS) bei einer Wellenlänge von 293 Nanometer unter Verwendung von Quarzküvetten (bei UV-Wellenlänge eine Notwendigkeit) mit einer Schichtdicke von 1 cm. Zur Bestimmung der Uricase-Eigenextinktion wurde b) - 1.1) gegen b) - 1.2) als Nullwert abgelesen. Bei der Bestimmung des Standards bzw. der Urinproben wurde b) - 2.2) bzw. b) - 3.2) gegen die vordere Reihe von b) - 2) bzw. b) - 3) abgelesen, die als relativer Nullwert diente. Um den Ablauf der enzymatischen Reaktion zu überprüfen, wurden die bereits gemessenen Werte nach einiger Zeit in festen Abständen nochmals überprüft. Die Extinktion durfte sich bei vollkommen abgelaufener Reaktion nicht mehr ändern.

Die Küvette für Ansatz b) - 1.1) wurde für Ansatz b) - 2.1) und 3.1) verwendet, die Küvette für Ansatz b) - 1.2) wurde für Ansatz b) - 2.2) und - 3.2) verwendet, damit die Proben ohne Enzym nicht mit Enzymresten in Verbindung kommen konnten, was zu falschen Meßergebnissen hätte führen können.

Absorptionsspektren von Harnsäure und dem
Harnsäureabbauprodukt Allantoin



Ablauf der Extinktion bei der Durchführung der differential-spektrometrischen Harnsäurebestimmung



d) Berechnung

Die Einwirkung der Uricase auf das Harnsäurespektrum zeigt Abbildung 3 (übernommen aus ZÖLLNER [36]). Hier zeigt sich, daß die Harnsäure bei 293 Nanometer ein Absorptionsmaximum aufweist, während bei Allantoin im Bereich dieser Wellenlänge fast überhaupt keine Absorption stattfindet. Daraus erkennt man deutlich, daß nach Umwandlung der Harnsäure in Allantoin - unter Einwirkung von Uricase - die eingetretene Extinktionsdifferenz praktisch gleich der Extinktion der Harnsäure ist.

Bei der photometrischen Ablesung der Urinverdünnung vor Uricaseeinwirkung gegen die Urinverdünnung nach Uricaseeinwirkung (ergibt die Extinktionsdifferenz - E_{Hsr}) wird nicht berücksichtigt, daß nur in einem der Ansätze Uricase zugesetzt wurde. Dem Extinktionsabfall der einzelnen Ablesungen ist deshalb die Eigenextinktion des Enzyms (E_F) hinzuzuzählen. Die Harnsäurekonzentration ist proportional der Summe ($E_f + E_{Hsr}$). Diese Verhältnisse zeigt Abbildung 3 ganz deutlich.

Zur Berechnung sei Folgendes angeführt:

- 1) Die Harnsäurekonzentration ist proportional der Extinktion (f = Proportionalitätsfaktor)

$$[Hsr] = f \times (E_F + E_{Hsr})$$

- 2) Da der Extinktionskoeffizient für eine Lösung von 1 g/ml in der 1-cm-Küvette 0,0745 beträgt, ist die Konzentration im Versuchsansatz proportional:

$$\text{Formel a) } [Hsr] = f \times \frac{E_F + E_{Hsr}}{0,0745} \quad [\mu\text{g/ml}]$$

- 3 Unter Berücksichtigung der Verdünnung und Aufrundung des Extinktionskoeffizienten berechnet sich daraus die Harnsäurekonzentration im Urin:

Formel b)

$$\bar{L}_{\text{Hsr}} = \frac{\overset{\text{II}_a}{\underset{\text{I}}{E_F}} \overset{\text{III}_a}{\underset{\text{II}_b}{E_{\text{Hsr}}}} \times \frac{\text{IV}}{3} \times \frac{\text{VI}}{25} \times \frac{100}{2} \times \frac{2}{1000} \bar{L}_{\text{mg}/100 \text{ ml}}$$

- 4) Durch Kürzen der dafür günstigen Zahlen ergibt sich:

Formel c)

$$\bar{L}_{\text{Hsr}} = \frac{(E_F \ E_{\text{Hsr}}) \times 1000}{2} \bar{L}_{\text{mg}/100 \text{ ml}}$$

$$\bar{L}_{\text{Hsr}} = (E_F \ E_{\text{Hsr}}) \times 500 \bar{L}_{\text{mg}/100 \text{ ml}}$$

Erläuterung zu den römischen Ziffern in der verwendeten Formel b):

I = aufgerundeter Extinktionskoeffizient.

II_a/II_b = 2 ml Urin und 1 ml Uricasegebrauchslösung ergeben zwei Anteile Urin in drei Gesamtanteilen, somit ist die Multiplikation mit 3/2 nötig, um die Originalkonzentration zu erhalten.

III_a/III_b = 0,2 ml Urin wurden mit Puffergebrauchslösung auf 25 ml verdünnt.

IV = Faktor 100 zur Umrechnung von mg pro ml in mg pro 100 ml (siehe dazu die Dimensionen in den Formeln a, b und c).

V = Faktor 1 000 zur Umrechnung von g in mg (siehe dazu die Dimensionen in den Formeln a, b und c!).

VI = Der Urin wurde bei der Verarbeitung bereits auf 1 : 2 vorverdünnt, was durch den Faktor "2" im Zähler wieder berücksichtigt wird.

IV

BESTIMMUNG DES KREATININ IM URIN

Das Kreatinin im Urin wurde mittels Autoanalyser (einem normalen Zwei-Straßen-Autoanalyser, Baujahr 1969) der Firma TECHNICON Co Ltd. (London) bestimmt.

Die Bestimmung erfolgte nach der JAFFE-Reaktion:

Kreatinin bildet in alkalischer Lösung mit Pikrinsäure eine rotbraune Farbe, deren Intensität bei 505 Nanometer photometrisch gemessen wird.

Diese Methode ist eine Modifikation der automatischen Bestimmung von FOLIN und WU (1949), die von STEVENS et al. [33_] modifiziert wurde.

Zur Bestimmung des Kreatinins wurde der gut durchgerührte Urin im Verhältnis 1 : 20 verdünnt. Ein Milliliter jeweils von diesem verdünnten Urin wurde für jeden Versuchstag und jede Versuchsperson in einen 1 ml-fassenden Plastikzylinder gegeben und mit Deckel versehen. Diese Proben wurden dann im Tiefkühlschrank eingefroren und aufbewahrt, um dann bei einem Arbeitsgang im Autoanalyser bestimmt werden zu können.

BESTIMMUNG DER OROTSÄURE IM URIN

1) Allgemeines

Die Bestimmung der Orotsäure im Urin wurde nach der Methode von A. STAJNER, J. SUVA und F. MUSLI [32_] durchgeführt. Bei dieser Umwandlung der Orotsäure in

Barbitursäure wurde eine Anzahl von Reagenzien benötigt (siehe unten). Die photometrische Messung der Barbitursäureverbindung erfolgte im Photometer der Firma BECKMANN bei einer Wellenlänge von 458 Nanometern.

2) Methodik und Prinzip

Das Prinzip des Orotsäurenachweises bei dieser Methode beruht auf der Deproteination im Urin mittels Uranylessigsäureester und der Verwandlung der Orotsäure durch Bromation in 5,5-Dibrombarbitursäure und nachfolgende Debromation in Barbitursäure. Letztere ergibt mit p-Dimethylaminobenzaldehyd ein intensiv gefärbtes Produkt, 5-p-dimethylaminobenzyliden-Barbitursäure, die bei 458 nm gemessen wird.

3) Zur Orotsäurebestimmung benötigte Reagenzien:

- a) Na-Citrat-Puffer 0,4 M mit acid. hydrochloricum pH 2,5
- b) L-Ascorbinsäure 5 %ige Lösung in Aqua bidest.
- c) Uranylacetat $(\text{UO}_2(\text{OCOCH}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O})$

Diese drei Reagenzien müssen unbedingt im Kühlschrank aufbewahrt werden!

Sollte die Uranylacetatlösung selbst angesetzt werden müssen, so ist darauf zu achten, daß sie mindestens einen Tag stehen bleibt, da sich Uranylacetat nur sehr schwer löst (1,65 g in 100 ml Aqua dest.).

- d) Bromwasser (gesättigte Lösung)
- e) p-dimethyl-amino-benzaldehyd 2,5 %ige Lösung in n-Propanolol
- f) n-Butylacetat.

4) Durchführung der Orotsäurebestimmung

a) Schematischer Ablauf

Übersicht 5 veranschaulicht das Schema der Orotsäurebestimmung.

Problemlösung zur Dreifachbestimmung im Urin und in der Standardlösung

[illegible]

60 Sekunden Inkubation (von 20sec. bis 5 min. gehen Ergebnisse)	1ml L-Ascorbin- säure (5 %ig) in jedes Reagenzglas	5 Minuten Vorsicht! 40 °C	2 ml p-Dimethyl- aminobenzaldehyd (2,5 %ig) in n-Propanol <u>Schütteln</u>	10 Minuten Wasserbad 40 °C	<u>Fikühlen</u>	4ml N-Butyl- acetat in jedes Reagenzglas <u>Schütteln</u>	40 Minuten zentrifu- gieren bei 4000 U/min	3ml vom Über- stand jeweils in die letzte Gläser- reihe	Photometrische Messung
1'	1	1	1	1	L'	L'	L'	L'	
2'	2	2	2	2	S'	S'	S'	S'	
3'	3	3	3	3	P'	P'	P'	P'	
4	4	4	4	4	L	L	L	L	
5	5	5	5	5	S	S	S	S	
6	6	6	6	6	P	P	P	P	

LEERWERT: 4 ml Aqua dest.

STANDARD: 3 ml Aqua dest. + 1 ml Orotsäure (2 mg/
100 ml immer frisch angesetzter Lösung)

PROBE : 3 ml Aqua dest. + 1 ml vom abzentrifugierten Urin

a.a) Urin zentrifugieren: 5 Minuten bei 4 000 U/min.

a.b) In Leerwert, Standard und Probe wird unter Schütteln tropfenweise 1 ml Uranylacetat zugegeben, um vorhandenes Eiweiß zu fällen. (Leerwert und Standard verfärben sich gelblich, der Urin wird trüb).

a.c) Zentrifugieren: 10 Minuten bei 4 000 U/min.

a.d) Vom Überstand 2,5 ml in eine neue Reagenzglasreihe geben (Glasreagenzgläser, da N-Butylacetat Plastikgläser auflösen würde).

a.e) In Leerwert, Standard und Probe 2 ml Na-Citrat-Puffer (alles gut durchschütteln).

a.f) In alle Gläser 0,5 ml Bromwasser, gesättigte Lösung (unter dem Abzug arbeiten!).

a.g) Gut durchschütteln: Es resultiert daraus eine bräunliche Verfärbung.

a.h) In alle Gläser 1 ml L-Ascorbinsäure (diese Zugabe der L-Ascorbinsäure sollte 60 Sekunden nach der Bromwasserzugabe erfolgen, doch ist dieses Zeitintervall nicht kritisch, da ähnliche Resultate auch nach 20 Sekunden bis 5 Minuten zu erhalten sind).

a.i) Inkubation im Wasserbad von 40 Grad Celsius für 5 Minuten, nachdem vorher die Ansätze gut durchgeschüttelt wurden.

a.k) In alle Gläser - nach Herausnahme aus dem Wasserbad - 2 ml p-dimethylaminobenzaldehyd

(2,5 %ige Lösung) in N-Propanolol (feuergesährlich').

- a.1) Inkubation im Wasserbad von 40 Grad Celsius für 10 Minuten, nachdem vorher die Ansätze wiederum gut durchgeschüttelt wurden.
- a.m) In alle Gläser - nach Herausnahme aus dem Wasserbad und Abkühlung auf Zimmertemperatur - Zugabe von 4 ml N-Butylacetat (feuergesährlich!). Die Ansätze werden gelblich bis farblos. Gut durchschütteln zur Extraktion der gebildeten 5-(p-dimethylaminobenzyliden)barbitursäure!
- a.n) 3 ml des Überstandes in eine neue Reagenzglasreihe zur photometrischen Messung.

Es ist zwar technisch möglich, von der vorhergehenden Reagenzglasreihe die drei Milliliter zum Photometrieren herauszupipettieren, aber dabei ist es sehr leicht möglich, daß sich die beiden Phasen durch ungeschicktes Hantieren vermischen, und dann muß erneut zentrifugiert werden, was mehr Zeitaufwand bedeutet, als das Abpipettieren in eine dritte Gläserreihe.

b) Photometrische Messung

Die entstandene Farbe ist für mehrere Stunden stabil.

Die photometrische Messung erfolgt mit Glühlicht (WOLFRAM-Lampe - bei Benutzung des Photometers mit der Wolframlampe darauf achten, daß sie auch warm ist, also vor Benützung eine halbe bis eine Stunde vorher einschalten!) bei 458 nm.

Verwendung von Glasküvetten, 1 cm Schichtdicke (vor der Messung die Glasküvetten mit Aqua dest. auf Gleichheit überprüfen!).

Ab einer Extinktion von 1.0 sollte der Urin mit N-Butylacetat vorverdünnt werden, was bei uns aber nicht nötig war, da der Urin ohnehin bereits 1 : 2 vorverdünnt war.

Der Standard und die Proben werden immer gegen den Nullwert (= Leerwert) gemessen!

5) Berechnung der Orotsäurekonzentration

$$\frac{E \text{ (Probe)}}{E \text{ (Standard)}} \times 20 \times 2 = \mu\text{g Orotsäure in 1 ml Urin}$$

I II

I = Verdünnung des Urins im Laufe der Bestimmung durch die einzelnen Reagenzien, die durch den Faktor "20" wieder berichtigt wird.

II = Vorverdünnung des Urins bei der Verarbeitung, die durch den Faktor "2" berücksichtigt wird.

$$\frac{E \text{ (Probe)}}{E \text{ (Standard)}} \times 4 = \text{mg/100 ml Orotsäure im Urin}$$

Der Fehler der Methode überschreitet nach sorgfältiger Durchführung der Analyse nicht $\pm 3 \%$ bei einer Konzentration von 10 Mikrogramm in der Probe.

VI

HILFSMITTEL ZUR VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Zur Formeldiät (siehe Seite 35 ff)

1) Allgemeine Materialien

In einem Laborbuch (DIN A 4) wurden zunächst alle Versuche zur Harnsäurebestimmung sowie Orotsäurebestimmung ebenso die Eichkurven für beide Substanzen niedergelegt. Während des Versuchsablaufes wurden in

dem Laborbuch alle gemessenen und festgestellten Größen aufgeschrieben: Körpergewicht der Versuchspersonen, Protokoll über die Einhaltung bzw. Nichteinhaltung der Versuchsvorschriften, Gesundheitszustand der einzelnen Personen, Harnzeitvolumen, Harnsäure- sowie Orotsäurekonzentration im Urin, Harnsäure- und Orotsäureausscheidung im Urin pro 24 Stunden.

Filzstift (blau oder rot) zur Beschriftung der Gläser.

Klebeetiketten für die Proben, die im Eisschrank aufbewahrt werden mußten.

Bleistift zur Beschriftung der Klebeetiketten.

Parafilm zum Durchschütteln der Ansätze bzw. zum Verschließen von kurzfristig im Kühlschrank aufzubewahrenden Reagenzien oder Ansätzen.

Laborwaage zum Einwiegen der RNS.

Kühlschrank und Eisschrank bzw. Gefriertruhe.

Urinflaschen (1 Liter-Plastikflaschen) zum Sammeln des Urins (pro Person und Tag zwei Flaschen, was für alle zehn Personen einem Tagesbedarf von zwanzig Flaschen entspricht; während des ganzen Versuchsablaufs wurden einhundertzwanzig Flaschen benötigt, da die abgelieferten sofort gereinigt wurden und neu beschriftet für die nächsten Sammelperioden ausgegeben werden konnten).

Plastiktrichter (drei Stück für die drei weiblichen Versuchsteilnehmer).

Meßbecher (3 Liter) zum Abmessen des 24 Stunden-Urins.

Langer Glasstab zum Durchrühren des Urins im Meßbecher (der Urin wurde zunächst schon in den Plastikflaschen einige Minuten von Hand kräftig aufgeschüttelt, um die ausgefallene Harnsäure in Lösung zu bringen).

Meßkolben (20 ml) zum Verdünnen des Urins für die Kreatininbestimmung im Urin.

Eppendorf-Pipette (1 ml) zur Abfüllung des verdünnten Urins zur Kreatininbestimmung.

1 ml-Plastikzylinder mit Verschuß zur Abfüllung der Kreatininbestimmungsproben.

Aqua dest. zur Verdünnung des Urins im 20 ml-Meßkolben für die Kreatininbestimmung (1 000 ml-Spritzflasche).

50 ml-Pipette zur Entnahme eines aliquoten Teils von Urin aus dem Meßbecher für die Messungen.

Reagenzglasständer (je nach Anzahl der Sammeltage ein, zwei oder drei Ständer).

Plastik-Reagenzgläser mit Plastikstöpsel; jeweils für eine 24 Stunden-Sammelperiode drei Stück, für zehn Personen pro Tag also dreißig und für die ganze Versuchsdauer mal fünf und zwanzig ist also siebenhundertfünfzig Stück.

Tuluol zur Verhinderung der bakteriellen Uricolyse im Urin in den Sammelflaschen (5 ml pro Flasche, im ganzen Versuch als 2 500 ml).

2) Materialien zur Harnsäurebestimmung

a) Allgemeines

Analysenwaage zum Abwiegen des Harnsäurestandards.

Photometer (ZEISS).

Quarzküvetten (vier Stück) zur photometrischen Messung im UV-Bereich.

Drei Reagenzglasständer zum Abfüllen der Urinproben in Reagenzgläser.

Stöpsel zum Verschließen der Kolben und Reagenzgläser, die für einige Zeit im Kühlschrank aufbewahrt werden mußten.

b) Reagenzien

Uricase LÖWENS (siehe Seite 39 ff). Für eine Bestimmung pro Tag und zehn Proben wurde eine Ampulle Uricase benötigt (eine Ampulle Uricase ergibt 25 ml Uricasegebrauchslösung - Verdünnung 1 : 100 -, von der bei Doppelbestimmung für Eigenextinktion, Standard und Proben 24 ml pro Tagesbestimmungsreihe benötigt wurden), was einer Gesamtzahl von 25 Ampullen für den Versuchsablauf entspricht.

Reine Harnsäure zur Herstellung des Harnsäurestandard (zweimal pro Woche zubereitet, wobei jedes Mal 8 mg eingewogen wurden, was einem gesamten Bedarf an Harnsäure von 32 mg entspricht).

Glycinpufferstammlösung (1 Liter-Flasche, 2/3-molar,

pH 9,3), die zur Haltbarkeit über Chloroform geschichtet ist. Aus diesem Grunde war ein vorsichtiges Pipettieren bei der Entnahme nötig, um eine Mischung der Glycinpufferstammlösung mit Chloroform zu vermeiden.

c) Laborgegenstände

Reagenzgläser (pro Bestimmung für einen Tag für Leerwert, Standard und Bestimmungsreihe $4 + 4 + 10 \times 4 = 48$; bei einer Bestimmungsreihe von zwei Tagen also $4 + 4 + 20 \times 4 = 88$, bei drei Tagen $4 + 4 + 30 \times 4 = 128$; maximal wurden etwa 250 Reagenzgläser benötigt, da die gebrauchten in der Zwischenzeit wieder gereinigt wurden).

25 ml-Kölbchen zur Verdünnung des Urins mit Puffergebrauchslösung (1 : 125) und des Standard (pro Bestimmungsreihe für einen Tag 11 Kölbchen, maximaler Bedarf: Bestimmungsreihe für zwei Tage ist $2 \times 10 + 1 = 21$ und drei Tage ist $3 \times 10 + 1 = 31$ insgesamt also 52 Kölbchen.

50 ml-Kölbchen zur Verdünnung der Uricase mit Puffergebrauchslösung (zwei Stück) für eine Bestimmungsreihe von zwei Tagen.

75 ml-Kölbchen zur Verdünnung der Uricase mit Puffergebrauchslösung (zwei Stück) für eine Bestimmungsreihe von drei Tagen.

1 000 ml-Kolben zur Herstellung der Puffergebrauchslösung aus der Stammlösung.

1 ml-Auslaufpipetten.

2 ml-Auslaufpipetten.

50 ml-Auslaufpipetten zur Entnahme der Pufferstamm-
lösung (zwei Stück).

3) Materialien zur Orotsäurebestimmung

a) Allgemeines

Magnetrührer mit eingebauter Heizplatte.

Zentrifuge (mindestens 4 000 U/min).

b) Reagenzien

Siehe dazu "Orotsäurebestimmung" V, 3) (S. 51) ff.

c) Laborgegenstände

Zentrifugengläser.

Reagenzgläser (pro Bestimmung für einen Tag für
Leerwert, Standard und Proben $3 \times 2 + 3 \times 2 + 10 \times 3$
 $\times 2 = 72$; bei einer Bestimmungsreihe von zwei Tagen
also $3 \times 2 + 3 \times 2 + 20 \times 3 \times 2 = 132$; davon wurden in
der ersten Reihe Einmal-Reagenzgläser verwendet, wo-
durch für eine Bestimmungsreihe von zwei Tagen
88 Zentrifugengläser benötigt wurden. Insgesamt wur-
den etwa 400 Zentrifugengläser gebraucht, da die an-
deren in der Zwischenzeit gereinigt werden mußten.

0,5 ml-Eppendorf-Pipette zum Pipettieren des Brom-
wassers.

1.0 ml-Eppendorf-Pipette zum Pipettieren der Reagen-
zien von 1 ml und 2 ml.

4 ml-Glasauslaufpipette zum Pipettieren des N-Butylacetat.

50 ml-Erlenmeyer-Kolben für die Reagenzien.

100 ml-Erlenmeyer-Kolben für die Reagenzien.

Reine Orotsäure zur Zubereitung des Standard (der von der Apotheke ausgelieferte erwies sich immer wieder als unbrauchbar), insgesamt etwa 15 g.

VII

EICKURVEN

1) Harnsäureeickurven

Aufstellen einer Harnsäureeickurve. Bei der Durchführung einer enzymatischen Bestimmungsmethode geht es in erster Linie darum, nach den theoretischen Grundlagen sich in die praktische Durchführung einzuarbeiten. Um nun die von uns praktizierte Methode einer Prüfung zu unterziehen in Bezug auf unsere Fertigkeit, nahmen wir zwei Bestimmungen mit praktisch genormten Größen (der mit der Analysenwaage bestimmten Harnsäuremengen) vor.

Die e r s t e Eickurve sollte sich über eine Konzentration von 0 bis 8 mg/100 ml erstrecken:

Es wurden 4 mg einer reinen Harnsäure in einer Mettler-Analysenwaage abgewogen und in einen 100 ml-Meßkolben mit aqua bidest. eingespült ad 100 ml. Vor der endgültigen Auffüllung ad 100 ml wurde noch der pH-Wert mit NaOH (bzw. bei zu großer Gabe von NaOH mit HCL) auf pH 9 eingestellt, da sich die Harnsäure bei diesem pH-Wert erfahrungsgemäß gut löst. Um die Löslichkeit noch zu verbessern und zu beschleunigen, wur-

de ein Rührkern eingelegt und mit einem Magnetrührer nebst Erwärmer diese Lösung auf etwa 30 Grad Celsius erwärmt und durchgerührt. Von diesem Ansatz wurden nach Abkühlung auf Zimmertemperatur folgende Verdünnungen hergestellt:

0,1 ml mit Puffergebrauchslösung ad 25 ml $\hat{=}$ 2 mg/100 ml

0,2 ml mit Puffergebrauchslösung ad 25 ml $\hat{=}$ 4 mg/100 ml

0,3 ml mit Puffergebrauchslösung ad 25 ml $\hat{=}$ 6 mg/100 ml

0,4 ml mit Puffergebrauchslösung ad 25 ml $\hat{=}$ 8 ,g/100 ml

Somit ergeben sich im Meßgang Harnsäurekonzentrationen, deren Auswertung nach derselben Formel erfolgt wie im Urin.

Die z w e i t e Eichkurve sollte sich über eine Konzentration von 0 bis 102 mg/100 ml erstrecken:

Diesmal wurden 6 mg reine Harnsäure eingewogen und in einen 100 ml-Meßkolben eingespült. Die Behandlung dieser Harnsäurestammlösung wurde nach derselben Methode vorgenommen wie die obiger. Von diesem Ansatz wurden nach Abkühlung auf Zimmertemperatur folgende Verdünnungen hergestellt:

0,2 ml mit Puffergebrauchslösung ad 25 ml $\hat{=}$ 6 mg/100 ml

0,4 ml mit Puffergebrauchslösung ad 25 ml $\hat{=}$ 12 mg/100 ml

1,0 ml mit Puffergebrauchslösung ad 25 ml $\hat{=}$ 30 mg/100 ml

2,0 ml mit Puffergebrauchslösung ad 25 ml $\hat{=}$ 60 mg/100 ml

2,5 ml mit Puffergebrauchslösung ad 25 ml $\hat{=}$ 75 mg/100 ml

3,4 ml mit Puffergebrauchslösung ad 25 ml $\hat{=}$ 102 mg/100 ml

Hier ergeben sich im Meßgang Harnsäurekonzentrationen, die auch bei der Messung der Harnsäure im Urin auftreten. Bei der Auswertung erfolgt die Berechnung wie die der Harnsäure im Urin. Die praktische Bestimmung dieser Werte erfolgt ab den Verdünnungen der 25 ml-Kölbchen, wie die im Schema zur Bestimmung der Harnsäure im Urin angegebene. Es wurden jedoch Dreifach-Doppelbestimmungen durchgeführt, was bereits mit dem Ansetzen von jeweils drei 25 ml-Kölbchen begann.

Die Ergebnisse der Eichbestimmung zeigt Abbildung 4.

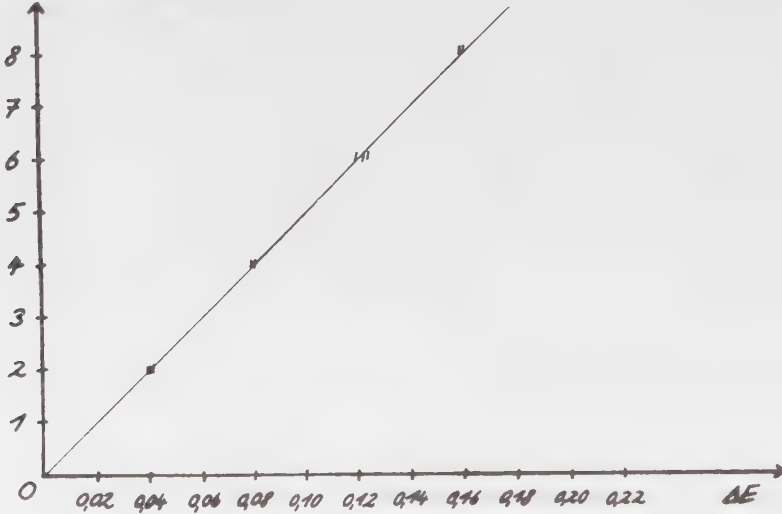
2) Orotsäureeichkurven

Aufstellen einer Orotsäureeichkurve. Nach den Angaben von A. STANJER, J. SUVA und F. MUSIL [32] ist die Abhängigkeit der Extinktion von der Konzentration der Orotsäure im Ansatz linear bis zu einer Konzentration von 20 μ g, was einer Orotsäurekonzentration von 2 mg/100 ml entspricht. Diese Behauptung wird durch die von uns aufgestellte Eichkurve bestätigt (siehe Abbildung 5, obere Graphik). Bei höheren Konzentrationen wird der Grad der Genauigkeit immer kleiner, d.h. die Rate der Abweichungen vom richtigen Wert immer größer. In Abbildung 5 zeigt die untere Graphik diesen Sachverhalt, und zwar tendieren die Abweichungen immer gegen einen niedrigeren Wert als gegen einen höheren (bezogen auf die Konzentration der angesetzten Lösung).

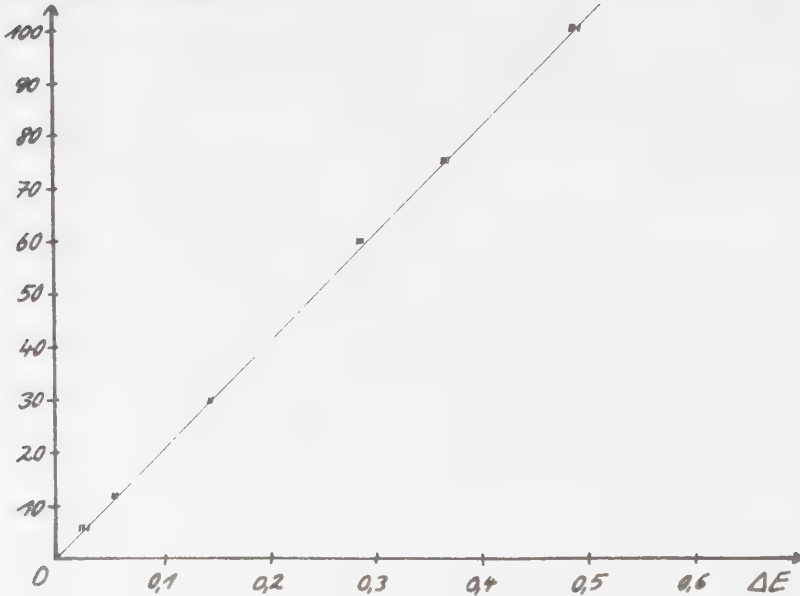
Für unsere Bestimmungen hatte aber diese untere Graphik der Orotsäureeichkurven (Abb. 5) nur eine theoretische Bedeutung, da die Konzentrationen der Orotsäure im Urin in unserem Versuch 15 μ g nicht überschritten, wobei durch die Vorverdünnung des Urins (1 : 2) sogar

Eichkurven zur Harnsäurebestimmung (von 0-8 u. 6-100 mg/100 ml)

Konzentration (mg/100 ml)

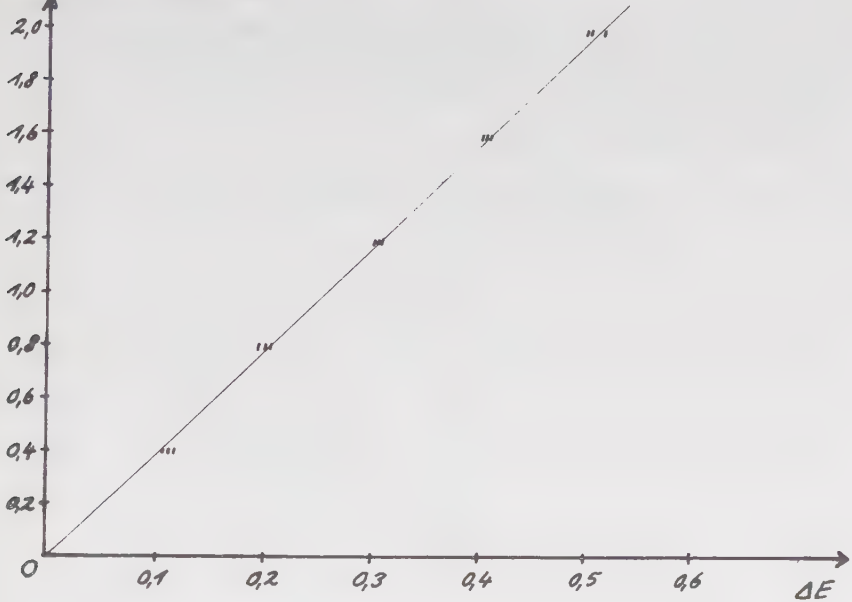


Konzentration (mg/100 ml)

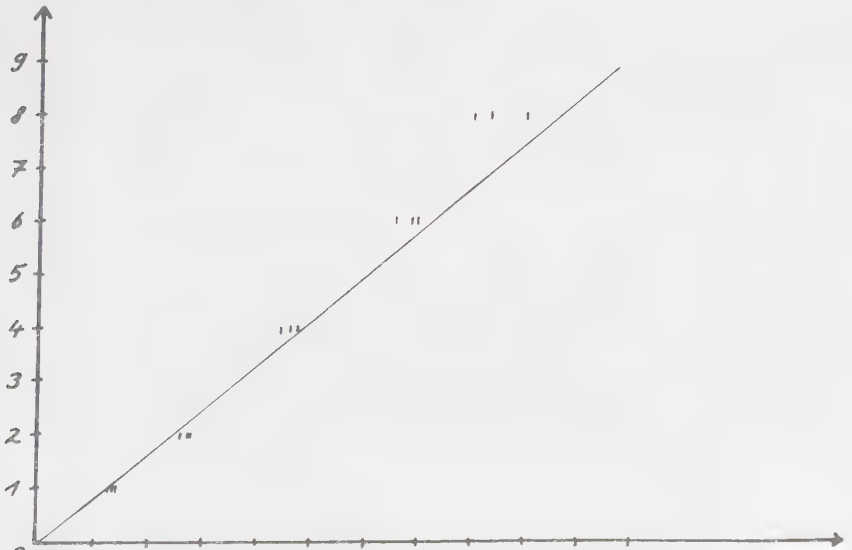


Eichkurve zur Orotsäurebestimmung (von 0-2 u. 1-8 mg/100 ml)

Konzentration (mg/100 ml)



Konzentration (mg/100 ml)



nur 7,5 μ g erreicht wurden.

Zwei Eichkurven sollten Aufschluß geben über das Verhalten der einzelnen Orotsäurekonzentrationen bei der Bestimmungsmethode nach A. STAJNER et al., die bei diesem Versuch angewendet wurde.

Die e r s t e Eichkurve sollte sich über den Bereich von 0 bis 2 mg/100 ml erstrecken:

In einer Metteler Analysenwaage wurden 2 mg reine Orotsäure abgewogen und mit Aqua bidest. in einen 100 ml-Meßkolben ad 100 ml eingespült, wobei der pH-Wert auf pH 8 eingestellt wurde mittels NaOH bzw. bei zu starker Alkalisierung mit HCL korrigiert. Diese Alkalisierung erfolgte deswegen, weil bei diesem pH-Wert die Orotsäure am leichtesten in Lösung zu bringen ist. Dann wurde noch in die Lösung ein Magnetkern eingebracht und die Lösung mit dem Magnetrührer (etwa 30 Min.) gut durchgerührt und gleichzeitig auf 30 bis 40 Grad Celsius erwärmt.

Von dieser Lösung wurden nach Abkühlung auf Zimmertemperatur jeweils in die Reagenzgläser gegeben:

0,2 ml $\hat{=}$ 0,4 mg/100 ml $\hat{=}$ 4 g

0,4 ml $\hat{=}$ 0,8 mg/100 ml $\hat{=}$ 8 g

0,6 ml $\hat{=}$ 1,2 mg/100 ml $\hat{=}$ 12 g

0,8 ml $\hat{=}$ 1,6 mg/100 ml $\hat{=}$ 16 g

1,0 ml $\hat{=}$ 2,0 mg/100 ml $\hat{=}$ 20 g

Die z w e i t e Eichkurve sollte sich über den Bereich von 0 bis 8 mg/100 ml erstrecken:

Es wurden wiederum in der Metteler Analysenwaage 2 mg reine Orotsäure abgewogen und mit Aqua bidest. in einen 100 ml-Kolben ad 100 ml eingespült. pH-Werteinstellung und In-Lösung-Bringen erfolgte wie bei der ersten Lösung.

Von dieser Lösung wurden nach Abkühlung auf Zimmertemperatur jeweils in die Reagenzgläser gegeben:

0,5 ml $\hat{=}$ 1 mg/100 ml $\hat{=}$ 10 g

1,0 ml $\hat{=}$ 2 mg/100 ml $\hat{=}$ 20 g

2,0 ml $\hat{=}$ 4 mg/100 ml $\hat{=}$ 40 g

3,0 ml $\hat{=}$ 6 mg/100 ml $\hat{=}$ 60 g

4,0 ml $\hat{=}$ 8 mg/100 ml $\hat{=}$ 80 g

Beide Bestimmungsreihen wurden als Dreifach-Doppelbestimmungen durchgeführt, d.h. es wurden jeweils drei Ansätze gemacht und von jedem eine Doppelbestimmung durchgeführt.

VIII

ERGEBNISSE

1) Urinausscheidung

Die täglichen Urinvolumina pro Versuchsperson und Tag schwankten im Verlaufe des Versuches maximal zwischen 670 ml und 3 060 ml; der Mittelwert betrug also 1 770 ml. Bei der Versuchsgruppe I schwankten die täglichen Urinvolumina zwischen 670 ml und 2 700 ml; der Mittelwert

betrug also 1 600 ml. Bei Versuchsgruppe II schwankten die täglichen Urinvolumina zwischen 1 010 ml und 3 060 ml; der Mittelwert betrug also 1 940 ml.

Aus Tabelle 10 sind die Einzelausscheidungen des 24-Stunden-Urin der einzelnen Versuchspersonen zu ersehen. Diese Tabelle zeigt, daß ein Großteil der Versuchspersonen eine Urinausscheidung von mehr als 1 000 ml pro Tag hat, was bei der großen Purinstoff- und somit Harnsäurebelastung zur Erzielung einer möglichst der Purinstoffzufuhr bzw. Harnsäurebildung adäquaten Ausscheidungs- menge der Purinstoff-Abbauprodukte (Harnsäure und Orotsäure in diesem Falle) beitragen sollte.

2) Kreatininausscheidung

Tabelle 11 zeigt die einzelnen Werte der täglichen Kreatininausscheidung bei den einzelnen Versuchspersonen. Die einzelnen Werte weisen eine erhebliche Abweichung von einem Mittelwert auf, und es ist kein Zusammenhang zwischen den Versuchsperioden mit bzw. ohne Synthesehemmer und der Kreatininausscheidung zu beobachten. GÜNTHER und KNAPP [14] stellten bei Versuchen ebenfalls fest, daß kein Zusammenhang, das heißt keine Beeinflussung des Kreatinin, der Nüchternblutzucker und der Plasma lipide (Cholesterin, Triglyzeride, freie Fettsäuren und Phospholipide) durch Allopurinoltherapie festzustellen ist. In unserem Versuch hat sich dies sowohl für Allopurinol wie auch für Thiopurinol bezüglich des Kreatinin bestätigt.

Bei den Abweichungen von einem Mittelwert schwanken die extremsten Werte von einer Versuchsperson zwischen 653 mg/24 h und 3 375 mg/24 h und im ganzen Versuchskollektiv zwischen 281 mg/24 h und 3 612 mg/24 h.

In Abbildung 6 wird versucht, einen wechselseitigen Zusammenhang zwischen Urinvolumen pro 24 Stunden und

Versuchstag Datum		2.1.7	22.1	23.1	24.1	25.1	26.1	27.1	28.1	29.1	30.1	31.1	1.2.	2.2.	3.2.	4.2.	5.2.	6.2.	7.2.	8.2.	9.2.	10.2.	11.2.	12.2.	13.2.	14.2.
V.P.	Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Name Nr.																										
E.G.	1 ♀	670	1660	1830	1550	1450	2180	2050	1450	2030	1400	2200	1200	1720	1870	1570	1730	1740	830	2110	2050	2000	1500	2210	1610	1950
E.S.	2 ♀	1470	10820	4330	1410	1450	1470	1440	1440	1590	2010	1200	1470	1400	2050	1650	1800	3090	1850	1470	2850	1010	1160	1300	1210	1740
H.D.	3 ♂	1300	2220	1220	1380	1860	2250	1500	1630	1250	1640	1800	1640	1350	1530	2000	1310	1920	2140	1900	2090	1720	2250	1620	1070	14570
H.M.	4 ♂	1420	1640	1500	1830	1600	1950	1080	1760	1600	1320	1390	1050	1940	1310	1680	2100	1910	1770	1640	1430	1520	1555	1070	1020	1070
H.B.	5 ♂	1100	1400	1330	1250	1430	1330	1170	1590	1200	1630	1220	1300	1420	1360	1530	1300	1500	1260	1450	1440	1260	1250	1300	1510	1290
F.D.	6 ♂	1220	1450	1570	2200	2160	2120	2150	1760	1760	2120	2500	2180	1950	2200	2050	2070	2010	2190	1650	2100	1860	1020	1040	2130	2280
K.M.	7 ♀	2050	1980	1650	2000	2120	2600	2110	1600	2120	2500	2300	2150	2300	2170	1750	2920	2140	2220	3050	2150	1980	1060	2150	2580	2330
H.W.B.	8 ♂	1480	1500	1850	2400	2050	1800	2470	1970	1850	2020	2320	2070	2260	1980	1630	2500	1640	2210	2430	3060	1800	3020	1890	1920	2110
B.P.	9 ♂	2050	1000	1080	1900	1620	1700	1900	1500	2050	1980	2100	2680	1450	1400	2710	2520	2150	—	—	—	—	—	—	—	—
O.T.	10 ♀	1530	950	1420	1530	1250	2020	1820	1320	1090	1040	1020	1450	1410	890	780	2200	750	1000	980	900	1070	1050	1440	1450	1950
		Thio- bzw. Allopurinolgabe 300 mg/die																								

Kreatininausscheidung in mg/24h jeweils von 7⁰⁰-7⁰⁰

Versuchungs- V.P. Datum	21.4.	22.4.	23.4.	24.4.	25.4.	26.4.	27.4.	28.4.	29.4.	30.4.	30.4.	1.2.	2.2.	3.2.	4.2.	5.2.	6.2.	7.2.	8.2.	9.2.	10.2.	11.2.	12.2.	13.2.	14.2.	15.2.	16.2.	17.2.	18.2.	19.2.	20.2.	21.2.	22.2.	23.2.	24.2.	25.2.	26.2.	27.2.	28.2.	29.2.	30.2.	31.2.																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																															
Name Nr.	Nr. 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																</

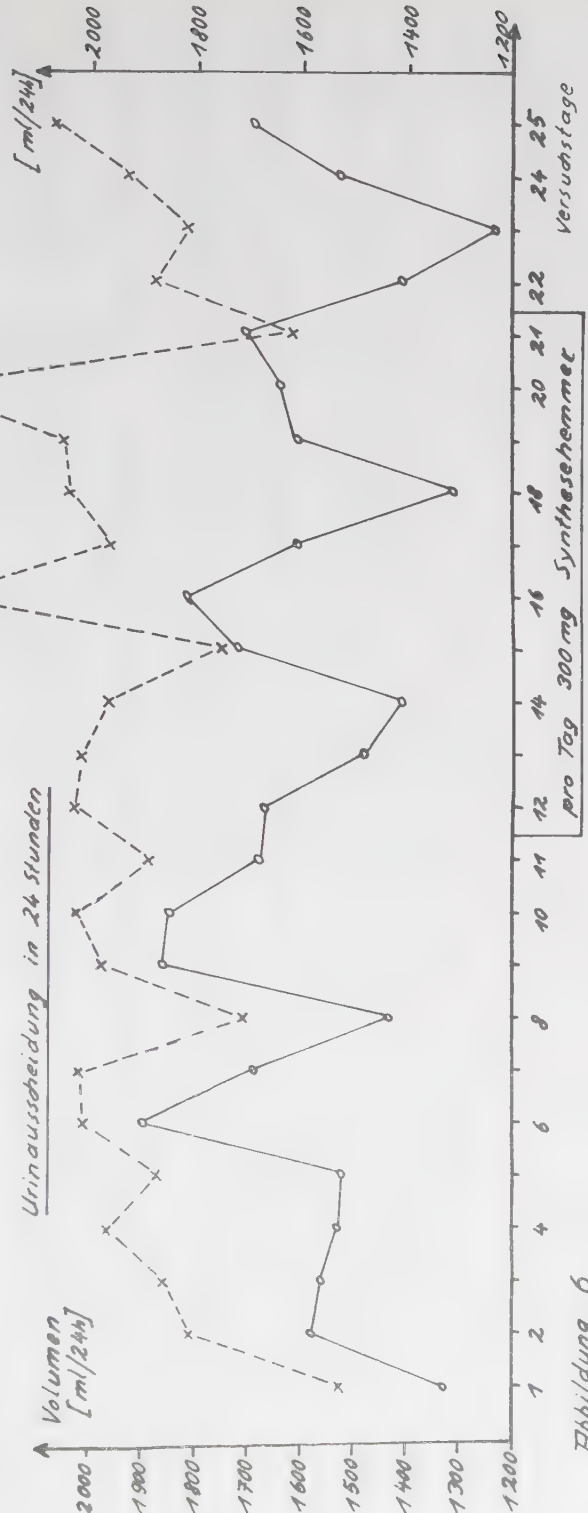
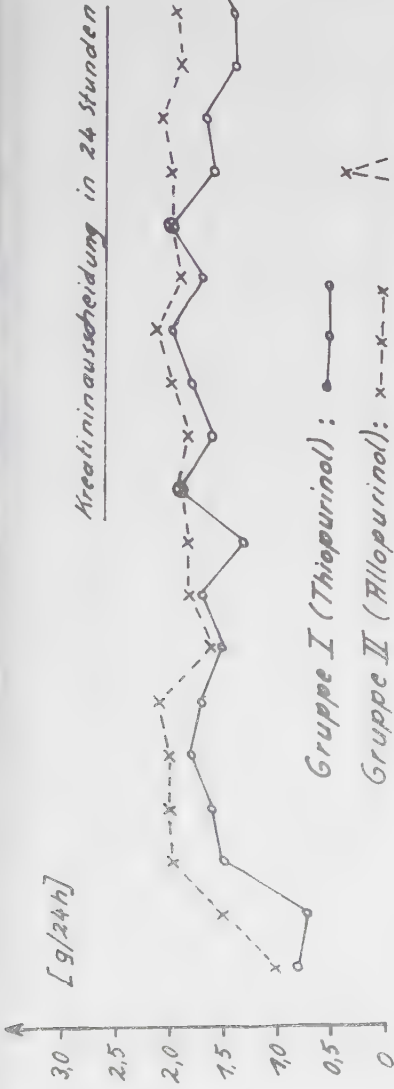


Abbildung 6

der Kreatininausscheidung pro 24 Stunden aufzuzeigen, aber auch hier sind kaum Zusammenhänge zu erkennen.

3) Harnsäureausscheidung

Die Harnsäureausscheidung errechnet sich aus dem Urinvolumen pro 24 Stunden und der gemessenen Harnsäurekonzentration im 24 h-Urin.

Tabelle 12 zeigt die Harnsäureausscheidung der einzelnen Versuchspersonen im Urin pro 24 Stunden. Dabei sind die einzelnen Personen der beiden Versuchsgruppen gekennzeichnet.

Aus Tabelle 13 sind für beide Gruppen (Prüfgruppe und Kontrollgruppe) Mittelwert, Standardabweichung sowie mittlerer Fehler der Standardabweichung zu ersehen.

Abbildung 7 veranschaulicht den Verlauf der Harnsäureausscheidung (Mittelwerte) für beide Gruppen über den Zeitraum der drei Versuchsperioden.

In Abbildung 8 sind Mittel- und Einzelwerte der Harnsäureausscheidung für beide Gruppen graphisch dargestellt.

In Abbildung 9 sind die Mittelwerte der täglichen Harnsäureausscheidung mit mittlerem Fehler für beide Gruppen graphisch dargestellt.

4) Orotsäure-Ausscheidung

Die Orotsäureausscheidung errechnet sich wie die Harnsäureausscheidung aus dem Urinvolumen pro 24 Stunden und der gemessenen Orotsäurekonzentration in 24 h-Urin.

Tabelle 14 zeigt die tägliche Orotsäureausscheidung der einzelnen Versuchspersonen, wobei diese nach Zugehörigkeit zu Gruppe I oder II gekennzeichnet sind.

	25	26	27	28	29	30	31	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
E. 1 ♀	309,2	344,2	1511,9	912,6	1988,6	989,1	1036,5	989,1	1210,0	1043,0	1438,5	1001,6	1021,4	924,1	920,3	959,4	1122,3	991,0	780,5	703,3	820,0	1085,0	780,0	1085,0	780,0	1085,0	780,0	1085,0	780,0	1085,0	780,0	1085,0
E. 2 ♀	944,2	1320,5	1712,2	1001,5	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	
H. 3 ♂	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	
F. 4 ♂	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	
F. 5 ♂	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	
F. 6 ♂	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	
M. 7 ♂	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	
F. 8 ♂	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	
B. 9 ♂	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	
U. 10 ♂	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	1039,1	

Thio- bzw. Harnsäureausscheidung 300 mg/die

U. Z.

Allopurinol:

Thiopurinol:

$(mg/24h)$

Gruppe II - Allopurinol



Gruppe I - Thiopurinol

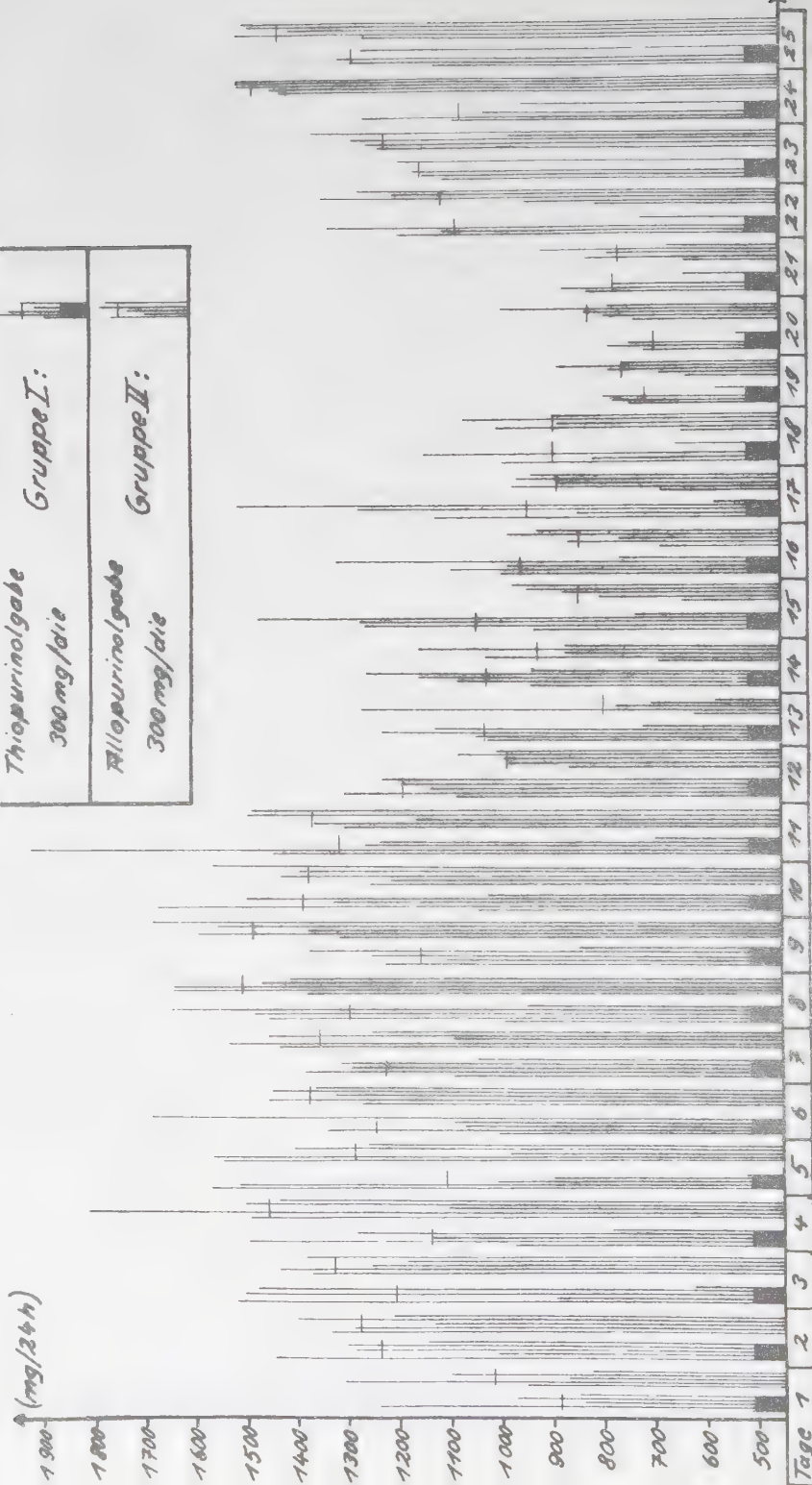


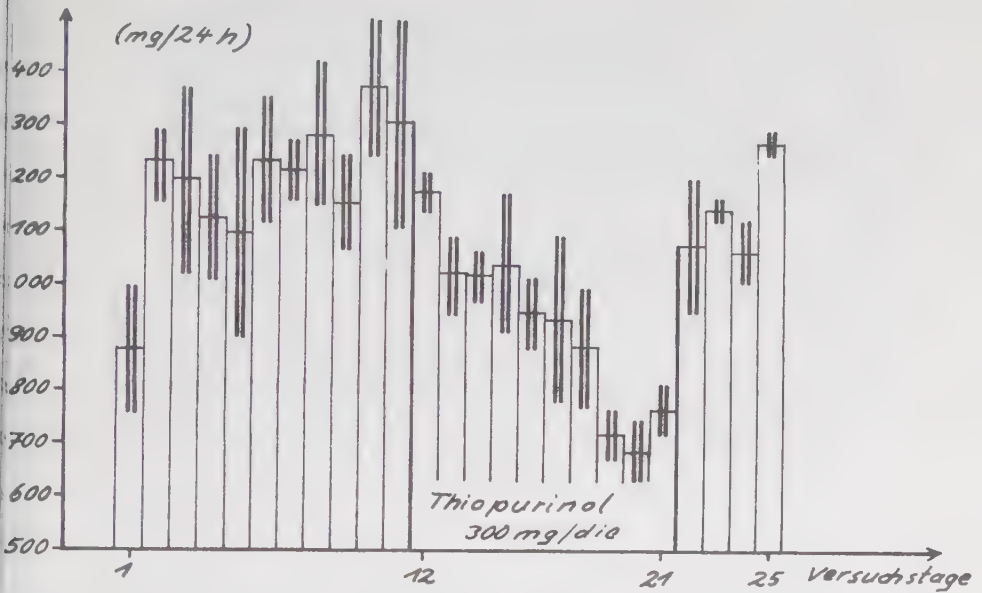
Harnsäureausscheidung in mg/24h mit Einzel- und Mittelwerten (n=5)

jeweils für Versuchsgruppe I und II (n=5)

Thiopurinolgabe 300 mg/die	Gruppe I:
Allopurinolgabe 300 mg/die	Gruppe II:

(mg/24h)



Harnsäureausscheidung von Gruppe I (Thiopurinol)Mittelwerte mit mittlerem FehlerHarnsäureausscheidung von Gruppe II (Allopurinol)Mittelwerte mit mittlerem Fehler

Aus Tabelle 15 sind (getrennt für beide Gruppen) Mittelwert, Standardabweichung sowie mittlerer Fehler zu sehen.

Abbildung 10 veranschaulicht den Verlauf der Orotsäureausscheidung (Mittelwerte) für beide Gruppen über den ganzen Versuchszeitraum.

In Abbildung 11 sind Mittel- und Einzelwerte der Orotsäureausscheidung für beide Gruppen graphisch dargestellt.

Abbildung 12 zeigt graphisch die Mittelwerte der täglichen Orotsäureausscheidung mit mittlerem Fehler für beide Versuchsgruppen.

IX

DISKUSSION DER ERGEBNISSE

1) Harnsäureausscheidung

Da die RNS-Belastung über den ganzen Versuchsablauf konstant 4 g pro Tag betrug, wäre zu erwarten, daß die Harnsäureausscheidung in engen Grenzen ebenfalls konstant bliebe. Aus Abbildung 7 ist auch ersichtlich, daß dies für einen Großteil der Versuchstage zutrifft, aber einige Werte müssen doch einer eingehenderen Betrachtung unterzogen werden, da sie diese Erwartung nicht erfüllen. Hier fällt zunächst der erste Tag in's Auge:

a) Diskussion der Ausscheidungskurve von Gruppe II

Bei Gruppe II steigt die Harnsäureausscheidung vom ersten zum zweiten Versuchstag von 1 010 mg auf

1 270 mg, was also einem Anstieg von etwa 25 % entspricht. Dieser erste große Anstieg (wie er auch bei Gruppe I zu finden ist) kann eventuell darauf zurückzuführen sein, daß bei der Ausgabe der Urinflaschen für den ersten Versuchstag kein Tuluol zur Verhinderung einer bakteriellen Uricolyse in die Urinflaschen gegeben wurde.

Andererseits aber kann dies allein nicht als ausreichende Erklärung für diesen großen Sprung vom ersten zum zweiten Tag angesehen werden. Vielmehr ist anzunehmen, daß sich die Versuchspersonen im normalen Alltag nicht so purinreich ernährten wie bei diesem Versuch und sich somit erst ein gewisser Harnsäurespiegel im Gesamtorganismus einstellen mußte, ehe sich auch die Harnsäureausscheidung dementsprechend erhöhen konnte.

Dieser optisch groß in's Auge fallende initiale Anstieg fügt sich aber sonst recht gut in den Gesamtverlauf der Harnsäureausscheidungskurve der Gruppe II ein, da ja bis zum vierten Versuchstag ohnehin ein kontinuierlicher Anstieg der Kurve bzw. der Harnsäureausscheidung zu verzeichnen ist.

Am vierten Tag ist dann ein erster Gipfelpunkt erreicht, der 1 450 mg beträgt, was einem Anstieg um etwa 43 % entspricht.

Dann erfolgt ein leichter kontinuierlicher Abfall, was einem häufig bei experimentellen Arbeiten zu beobachtenden Phänomen, einer Antwort der regulatorischen "feed-back-Mechanismen" des Organismus, zuzuschreiben ist.

Während des achten und neunten Versuchstages erreicht die Harnsäureausscheidung einen Gipfelpunkt von etwa 1 500 mg, was also im gesamten Versuchsablauf ohne

Harnsäuresynthesehemmer einer Steigerung von etwa 48 % entspricht.

An den beiden Tagen vor der Gabe des Synthesehemmers (elfter und zwölfter Tag) fällt die Ausscheidung auf 1 360 mg ab, bleibt aber während dieser Tage konstant und liegt auch um etwa 60 mg höher (etwa 6 %) als in der Mitte der Versuchsperiode I.

Der Abfall bei Gabe des Harnsäuresynthesehemmers "Allopurinol" von 1 360 mg auf 980 mg (also um etwa 38 %, wobei als Richtwert Tag 1 gilt mit 100 %) ist ein signifikanter Effekt der Wirkung des Synthesehemmers. Die Wirkung des Synthesehemmers nimmt noch zu, was wohl einer gewissen Kumulierung des Pharmakons im Organismus zuzuschreiben sein dürfte. Die Harnsäureausscheidung erreicht am neunzehnten Versuchstag den absolut tiefsten Stand mit 750 mg, was einem Abfall um 74 % vom Höchststand am achten und neunten Tag entspricht, vom steady state am zehnten und elften Tag entspricht es immerhin noch einem Abfall von 60 %.

Nach Absetzen des Synthesehemmers in der Nachbeobachtungsperiode steigt die Harnsäureausscheidung signifikant von 760 mg auf 1 110 mg an (also um etwa 34 %) und steigt am zweiten und dritten Tag dieser Periode weiter kontinuierlich auf einen Maximalwert von 1 480 mg, was dem Ausgangswert vor Gabe des Synthesehemmers entspricht.

Dieser kontinuierliche Anstieg ist wohl eine Nachwirkung des Synthesehemmers, der nicht schlagartig bei seinem Absetzen aus dem Organismus verschwinden kann, sondern erst im Verlaufe einiger Zeit metabolisiert wird.

b) Diskussion der Ausscheidungskurve von Gruppe I

Bei Versuchsgruppe I (Prüfgruppe) erfolgt der Anstieg der Harnsäureausscheidung vom ersten auf die weiteren Tage der Vorlaufperiode sprunghaft vom ersten auf den zweiten Tag. Die Ausscheidung erhöht sich von 800 mg auf 1 240 mg, also um rund 40 % während des Zeitraumes von einem Tag.

Am vierten und fünften Tag ist ein sogenannter "rebound effekt" zu beobachten, die Ausscheidungsmenge geht also etwas zurück.

Ab dem sechsten Tag pendelt sich nahezu ein "steady state" ein bei etwa 1 300 mg, wobei am neunten und zehnten Versuchstag eine stärkere Abweichung eintritt. Es scheint beinahe eine Verzögerung der Ausscheidung vom neunten zum zehnten Tag vorzuliegen, da auch vom neunten auf den zehnten Tag die mittlere Urinmenge dieser Gruppe um 200 ml ansteigt.

Der Abfall der Harnsäureausscheidung zu Beginn der Prüfperiode, also bei Gabe des Harnsäuresynthesehemmers "Thiopurinol", erfolgt zunächst nicht so schlagartig und ausgeprägt wie bei Gruppe II. Der Abfall beträgt etwa 15 % (Bezugspunkt ist Tag 1 mit 880 mg = 100 %) von 1 310 mg auf 1 180 mg.

Im weiteren Verlauf der Prüfperiode ist aus Abbildung 7 ein beinahe kontinuierlicher Abfall der Ausscheidung zu beobachten, dem ein sprunghafter Abfall vom achtzehnten auf den neunzehnten Tag folgt.

Hier ist aber wiederum ein gewisser Zusammenhang mit dem mittleren Urinvolumen anzunehmen, denn während an den übrigen Tagen das tägliche mittlere Urinvolumen nur geringe Schwankungen um einen festen Wert aufweist, fällt es vom achtzehnten auf den neun-

zehnten Tag um mehr als 300 ml.

Dieser Effekt ist auch vom vierzehnten auf den fünfzehnten Tag zu beobachten: Anstieg des mittleren Urinvolumens um knappe 300 ml - Anstieg der Harnsäureausscheidung (während der Phase des kontinuierlichen Abstiegs!) um 20 mg.

Nach Absetzen des Synthesehemmers ist der Anstieg der Harnsäureausscheidung in der Nachbeobachtungsperiode signifikant und liegt etwa in denselben Größenordnungen wie bei Gruppe II (von 760 mg auf 1 110 mg). Die Werte erreichen erst am letzten Tag der Nachbeobachtungsperiode die Ausgangswerte vor Gabe des Synthesehemmers "Thiopurinol".

2) Orotsäureausscheidung

Die mittlere Orotsäureausscheidung pro 24 Stunden ist bei beiden Gruppen keinen großen Schwankungen unterworfen (siehe Abbildung 10).

Bei der Prüfgruppe (mit Thiopurinol) zeigt sich in allen drei Versuchsperioden ein ziemlich konstanter Spiegel jeweils unterschiedlicher Höhe, was aus Abbildung zehn ersichtlich ist.

a) Diskussion der Ausscheidungskurve von Gruppe I (Prüfgruppe mit Thiopurinol)

Die Ausscheidung nimmt vom ersten Versuchstag bis zum letzten Tag der Vorlaufperiode von 3,6 mg auf 5,0 mg zu, wobei aber schon am zweiten Tag der Vorlaufperiode der nahezu gleichbleibende Mittelwert von etwa 4,2 mg pro Tag erreicht ist.

Bei Gabe des Synthesehemmers nimmt die Ausscheidung von 5 mg auf 6,8 mg schlagartig zu, wobei aber ein Verzögerungseffekt von einem Tag auftritt, denn

dieser Anstieg erfolgt erst am zweiten Tag der Prüfperiode. Dieser Effekt kann einerseits auf einen verzögerten Wirkeinsatz des Thiopurinol zurückzuführen sein, was aber weniger anzunehmen ist; vielmehr scheint hier die Urinmenge wieder eine Rolle zu spielen.

Vom elften zum zwölften Versuchstag nimmt die mittlere Tagesurinmenge um gut 200 ml ab, während sie vom zwölften zum dreizehnten Versuchstag gleichbleibt; somit könnte die am ersten Tag der Prüfperiode (also dem 12. Versuchstag) nicht ausgeschiedene Menge am zweiten Tag der Prüfperiode (dem 13. Versuchstag) mitausgeschieden worden sein, wofür auch spricht, daß am zweiten Tag der Prüfperiode mit 6,8 mg der höchste Stand der Orotsäureausscheidung erreicht ist, die am dritten Tag der Prüfperiode wieder auf den Wert von 5,2 mg abfällt und dort über die Dauer der Prüfperiode nahezu konstant bleibt.

Nach Absetzen des Synthesehemmers fällt die Orotsäureausscheidung um 1 mg von 5,2 mg auf 4,2 mg ab und erreicht bereits am dritten Tag der Nachbeobachtungsperiode den Ausgangswert vom ersten Versuchstag mit 3,6 mg.

b) Diskussion der Ausscheidungskurve von Gruppe II
(Kontrollgruppe mit Allopurinol)

Die Orotsäureausscheidung bei Gruppe II nimmt in der Vorlaufperiode von 4,6 mg am ersten Tag auf 6,9 mg am letzten Tag der Vorlaufperiode, dem elften Versuchstag, kontinuierlich zu.

Am ersten Tag der Prüfperiode bei Gabe des Synthesehemmers "Allopurinol" schnellte die Ausscheidung um

Ortsäureausscheidung in mg/24h jeweils von 7⁰⁰-7⁰⁰

Versuchstag u. P. Datum	22.1	23.1	24.1	25.1	26.1	27.1	28.1	29.1	30.1	31.1	1.2	2.2	3.2	4.2	5.2	6.2	7.2	8.2	9.2	10.2	11.2	12.2	13.2	14.2	15.2	16.2	17.2	18.2	19.2	20.2	21.2	22.2	23.2	24.2	25.2	
Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25											
Gruppe Nr.																																				
E.G. 1	1,60	4,05	3,35	2,13	3,09	2,90	5,47	2,11	3,94	2,57	5,68	3,02	5,59	5,09	5,14	5,55	5,75	3,18	7,74	6,77	5,56	4,50	5,16	3,76	3,57											
E.S. 2	3,82	3,18	4,27	3,49	3,66	4,04	3,84	3,27	3,50	4,06	4,90	7,84	7,35	9,91	1,50	7,74	9,09	8,36	9,71	11,40	6,06	4,35	6,77	5,75	4,06											
H.D. 3	3,58	4,07	3,29	3,54	4,27	4,54	3,00	3,53	4,73	4,92	3,93	4,32	4,95	5,98	6,91	4,88	6,51	9,51	6,95	5,81	5,83	5,06	4,99	4,21	3,14											
H.M. 4	4,95	4,37	4,82	4,53	4,26	5,72	6,58	5,87	5,63	5,21	5,96	9,10	11,00	15,28	12,83	16,17	16,28	18,68	18,83	18,40	14,08	5,31	8,57	6,22	4,83											
H.B. 5	3,84	5,37	3,66	4,59	3,67	4,60	3,51	4,50	3,74	3,94	5,18	5,55	8,05	7,17	7,08	7,02	6,65	7,35	7,97	6,57	5,37	4,58	4,44	3,02	3,55											
F.D. 6	5,14	5,37	5,06	4,84	5,55	6,03	6,09	7,63	5,33	7,87	6,74	9,75	13,56	10,45	13,42	9,37	13,46	10,09	9,80	10,36	11,25	8,08	8,17	6,82	6,08											
K.M. 7	3,74	5,30	5,75	4,77	6,42	5,96	5,73	5,60	6,61	7,34	6,77	11,82	11,50	12,69	10,48	12,83	13,58	13,13	12,99	11,40	9,47	8,37	7,77	6,27	5,82											
H.B. 8	5,34	5,50	5,26	6,38	6,02	6,80	6,50	9,19	9,33	10,38	9,95	15,57	16,40	16,45	18,37	18,25	17,11	20,06	18,97	17,28	11,55	13,59	9,82	7,68	7,92											
B.P. 9	5,80	4,76	5,39	7,30	6,24	6,55	4,75	7,64	8,46	8,49	7,55	7,30	10,93	8,27	9,18	8,06	10,28	-	-	-	-	-	-	-	-											
O.T. 10	3,76	2,85	2,70	4,35	2,18	2,04	3,64	2,42	2,31	3,96	3,11	3,82	4,58	4,69	4,25	6,82	4,11	4,83	2,86	4,52	4,23	2,62	3,97	3,35	4,06											

Thinnurinal:
V

Thio-bzw. Hlopurinolgabe
300 mg/die

Thioacetazol

Hlloaurinol

Thio - bzw. Hlloaurinolgabe

300 mg/die

mittlerer Fehler $s_{\bar{x}}$ (für Versuchsgruppe I und II - Thio- bzw. Allopurinol)

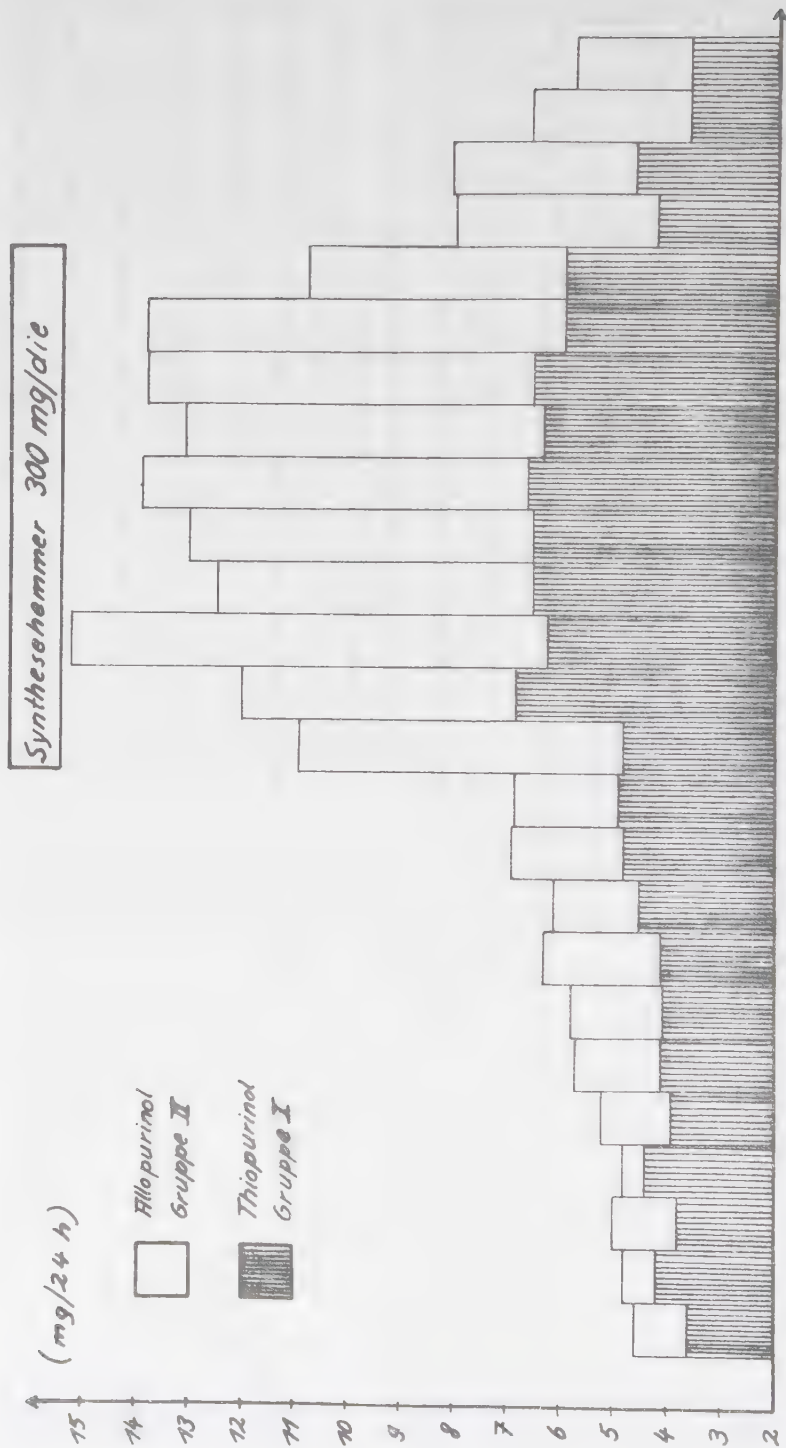
Versuchs- tag	Datum	21.1	22.1	23.1	24.1	25.1	26.1	27.1	28.1	29.1	30.1	31.1	1.2	2.2	3.2	4.2	5.2	6.2	7.2	8.2	9.2	10.2	11.2	12.2	13.2	14.2	15.2	16.2	17.2	18.2	19.2	20.2	21.2	22.2	23.2	24.2	25.2
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	GRUPPE I THIO.										
Mittel- wert	$\bar{x}$	3,61	4,24	3,67	4,38	3,90	4,08	4,07	4,83	4,51	4,77	5,89	4,80	6,81	6,24	5,49	6,48	6,66	6,21	6,37	5,80	5,24	4,70	4,63	7,58	3,58											
		+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-										
Standard- abweichung	$s_{\bar{x}}$	1,54	0,93	1,01	1,00	1,51	1,72	1,00	2,21	2,32	2,24	1,70	1,67	2,66	1,48	1,87	1,22	2,26	2,78	2,30	1,00	0,70	0,53	0,54	0,87												
		+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-										
Mittlerer Fehler	$s_{\bar{x}}$	0,69	0,41	0,45	0,86	0,67	0,77	0,44	0,98	1,03	1,00	0,76	0,74	1,19	0,66	0,83	0,54	1,01	1,30	1,19	0,50	0,35	0,53	0,26	0,25	0,18											
		+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-										

Thiopurinolgabe 300mg/die

GRUPPE II ALLOP.																									Allopurinolgabe 300mg/die				
M.Hol- wert	x	4,59	5,15	5,03	4,80	5,23	5,31	5,74	6,30	6,04	6,97	6,86	10,81	12,14	15,73	12,45	12,80	12,80	13,06	13,85	13,88	10,48	7,94	8,02		6,56	5,74	4,45	4,65
Standard- abweichung	s _x	0,75	0,52	0,54	1,07	1,11	1,23	1,11	2,83	2,14	2,45	1,88	3,02	3,17	3,81	4,05	4,44	3,14	4,48	4,48	3,63	2,96	3,60	1,39	0,75	1,61	0,62	0,33	0,65
Mittlerer Fehler	s _x	0,33	0,26	0,24	0,46	0,49	0,55	0,50	0,99	0,86	1,09	0,84	1,35	1,42	1,70	1,81	1,80	1,40	2,00	2,00	1,62	1,32	1,61	0,62	0,33	0,65	0,33	0,65	

Allopurinolgabe 300mg/die

Oxotarsäureausscheidung von Gruppe I und II (Mittelwerte)

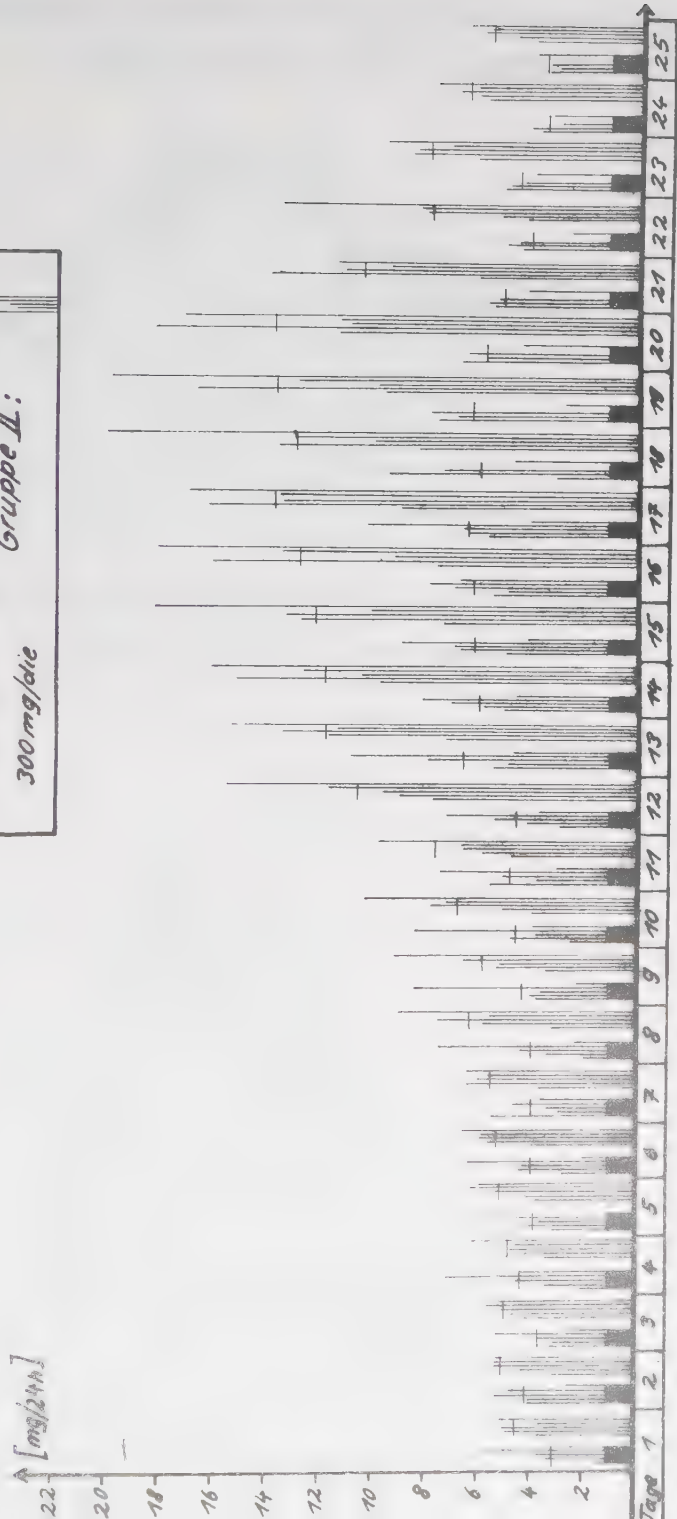


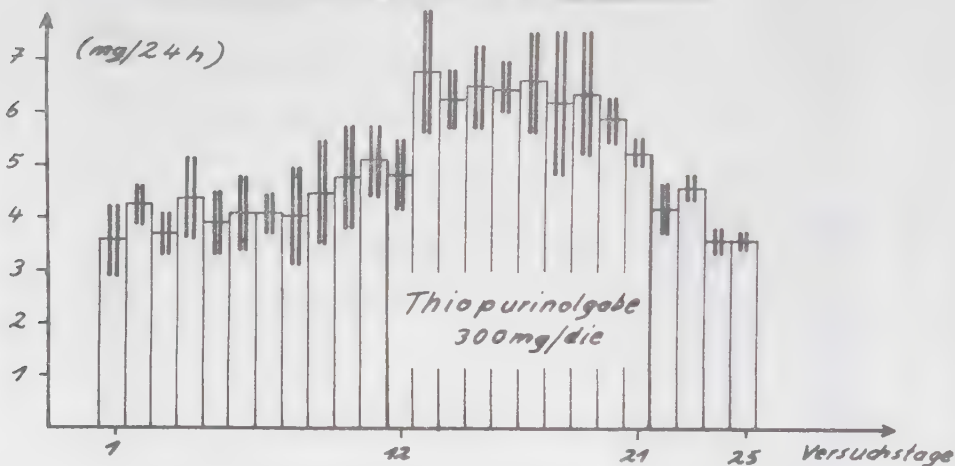
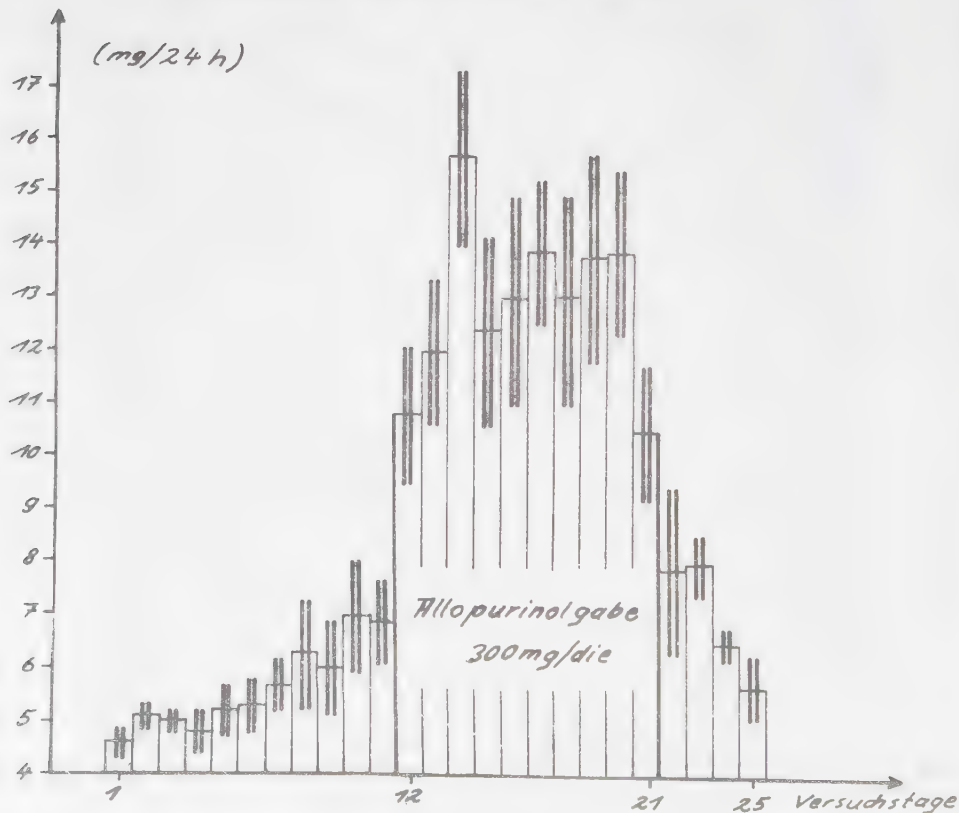
Datum	21.1	22.1	23.1	24.1	25.1	26.1	27.1	28.1	29.1	30.1	31.1	1.2	2.2	3.2	4.2	5.2	6.2	7.2	8.2	9.2	10.2	11.2	12.2	13.2	14.2	15.2
Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26

Urisäureausscheidung in mg/24h mit Einzel- und Mittelwerten ($n=5$)

jeweils für Versuchsgruppe I und II ($n=5$)

Thiopurinolgabe 300 mg/die	Gruppe I:
Allopurinolgabe 300 mg/die	Gruppe II:



Orotsäureausscheidung von Gruppe I (Thiopurinol)Mittelwerte mit mittlerem FehlerOrotsäureausscheidung von Gruppe II (Allopurinol)Mittelwerte mit mittlerem Fehler

etwa 4 mg von 6,9 mg auf 10,8 mg nach oben.

Bis zum sechsten Tag der Prüfperiode steigt die Orotsäureausscheidung weiter kontinuierlich an auf einen Maximalwert von 13,9 mg. Es pendelt sich dann ein "steady state" etwas unter diesem Maximalwert ein bis zum vorletzten Tag der Prüfperiode. Bei dem kontinuierlichen Anstieg in der Prüfperiode fällt nur der dritte Tag aus dem Rahmen, da hier die Ausscheidung einen Maximalwert von 15,7 mg erreicht, der etwa 1,8 mg über dem "steady state"-Wert liegt.

Am letzten Tag der Prüfperiode, dem 21. Versuchstag, fällt dann die Orotsäureausscheidung plötzlich auf einen Wert von 10,5 mg, was einem Abfall um etwa 3 mg entspricht. Da für diesen Abfall keine andere erklärliche Ursache vorliegt, dürfte eventuell eine Fehlerquelle bei der Menge der Urinausscheidung liegen, und zwar fällt das mittlere Harnvolumen vom vorletzten auf den letzten Tag der Prüfperiode von 2 300 ml auf 1 600 ml pro Tag ab, um dann wieder am ersten Tag der Nachbeobachtungsperiode auf 1 900 ml und in den folgenden Tagen weiter anzusteigen.

Wenn man sich die schlechten Löslichkeitseigenschaften der Orotsäure ins Gedächtnis ruft, kann ein Abfall der Ausscheidung um 3 mg bei einer Verringerung des Harnzeitvolumens um 700 ml durchaus ein Effekt des geringeren Lösungsvolumens sein. Allerdings ist ein ähnlich starker Abfall der Ausscheidung auch vom dritten zum vierten Tag der Prüfperiode (von 15,7 mg auf 12,5 mg) vorhanden, ohne daß hier ein Zusammenhang mit einem abfallenden Harnzeitvolumen zu ersehen ist.

In der Nachbeobachtungsperiode nach Absetzen des Allopurinol fällt die tägliche Orotsäureausschei-

dung von dem "steady state" (wenn man den fraglichen Abfall am letzten Tag der Prüfperiode unberücksichtigt läßt) von 13,8 mg in der Prüfperiode auf 7,9 mg in der Nachbeobachtungsperiode (also um etwa 6 mg) ab.

Nach dem zweiten Tag der Nachbeobachtungsperiode setzt ein kontinuierlicher Abfall der Ausscheidung ein, der aber bis zum letzten Versuchstag nicht den Ausgangswert, der zu Versuchsbeginn gemessen wurde, erreicht. Dieser Verzögerungseffekt ist wohl mehr auf die Reaktionsbereitschaft des Versuchskollektivs zurückzuführen, als auf einen Effekt des Allopurinol, denn auch in der Vorlaufperiode zeigt sich ein trägeres Verhalten gegenüber den vorgegebenen Parametern (Purinstoffzufuhr), was bei der Prüfgruppe nicht oder nur kaum zu beobachten ist.

3) Paardifferenzen

- a) Zur Analyse der Meßwertänderungen über den ganzen Versuchsablauf wurden Kontrollzeitpunkte ausgewählt und die an diesen Tagen gemessenen Werte auf signifikant unterschiedliches Verhalten geprüft.

Folgende Tage wurden ausgewählt:

10. Versuchstag auf 20. Versuchstag

20. Versuchstag auf 25. Versuchstag

11. Versuchstag auf 21. Versuchstag

21. Versuchstag auf 25. Versuchstag

Da Versuchsperson Nr 9 (Gruppe I) ab dem 18. Versuchstag ausgefallen war, wurden, um die Fallzahl

heraufzusetzen, noch zusätzlich folgende Kontrollzeitpunkte ausgewählt:

8. Versuchstag auf 17. Versuchstag

17. Versuchstag auf 25. Versuchstag

Die Analyse zur Feststellung der Signifikanz zwischen den Kontrollzeitpunkten in den beiden Gruppen wurde mittels des Testes zur Prüfung von Paardifferenzen durchgeführt.

Zur statistischen Prüfung bei Paardifferenzen geht man von der sogenannten Nullhypothese aus, die besagt:

Es ist keine echte Differenz vorhanden und eine dennoch beobachtete rein zufällig. Ist die Nullhypothese mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 0,5 % abzulehnen, so darf das Ergebnis (die Differenz) als signifikant (von Null) betrachtet werden.

b) Berechnung der Paardifferenzen

Als Beispiel sei die Harnsäureausscheidung von Gruppe I vom 10. auf den 20. Versuchstag dargestellt:

Lfd.Nr.	I (x_1)	II (x_2)	I - II (x_D)
1	1.043,0	707,3	335,7
2	1.672,8	783,7	889,1
3	1.316,2	741,6	574,6
4	1.016,8	524,3	492,5

$$\bar{x}_1 = 1262,2 \quad \bar{x}_2 = 689,2 \quad S(x_D) = 2291,9$$

$$\bar{x}_D = 572,975$$

$\bar{x}_D$ = Mittelwert der Differenz

s_D = Standardabweichung der Differenz

$s_{\bar{x}_D}$ = Standardabweichung der mittleren Differenz

t = Prüfquotient

ν = Zahl der Freiheitsgrade

$\bar{x}_D$ = 572,975

$$s_D = \sqrt{\frac{S(x_D - \bar{x}_D)^2}{n - 1}} = \sqrt{54.237,7531} = 232,89$$

$$s_{\bar{x}_D} = \frac{232,89}{4} = \pm 116,445$$

$$\left. \begin{matrix} c \\ t \end{matrix} \right\} = \frac{\bar{x}_D}{s_{\bar{x}_D}} \left\{ \begin{matrix} \text{für } n-1 > 200 \text{ gilt Normalverteilung} \\ \text{für } n-1 < 200 \text{ gilt STUDENT-Verteilg.} \end{matrix} \right.$$

$$\frac{\bar{x}_D}{s_{\bar{x}_D}} = \frac{572,970}{116,445} = 4,9206$$

$$\nu = 3 \quad (n=4)$$

Für $t = 4,9206$ ergibt sich bei einem ν von 3 aus der Studentenverteilung eine Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 0,02; die Harnsäureausscheidung nimmt also vom 10. auf den 20. Versuchstag um $572,97 \pm 116,445$ mg ab. Dieser Befund ist mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 0,2 % signifikant!

Paarvergleiche - Harnsäureausscheidung

Gruppe I - Thiopurinol						
Zeit (Tag)	n	Mittelwert der Differenz $\bar{x}_D$	Standardabweichung der Differenz s_D	Standardabweichung der Mittelwertdiff. $s_{\bar{x}_D}$	Prüfquotient t	Irrtums- wahrschein- lichkeit
10. - 20.	4	572,975	232,8900	116,445	4,9206	0,02
20. - 25.	4	-552,650	135,9364	67,9682	8,1310	0,005
11. - 21.	4	555,025	405,6941	202,8470	2,7362	0,10
21. - 25.	4	-470,975	144,9899	72,4949	6,4967	0,01
8. - 17.	5	234,160	276,2395	123,6524	1,8954	0,20
17. - 25.	4	-289,900	331,9511	165,9755	1,7466	0,20
Gruppe II - Allopurinol						
10. - 20.	5	545,680	152,0779	69,0742	8,0234	0,005
20. - 25.	5	-609,540	105,5892	47,2646	12,8965	0,001
11. - 21.	5	597,500	166,8411	74,6826	8,0079	0,005
21. - 25.	5	-670,580	101,2304	45,3135	14,7986	0,001
8. - 17.	5	618,580	122,5695	54,8654	11,2849	0,001
17. - 21.	5	-546,460	26,4947	13,2473	41,2865	0,001

- c) Für die weiteren Kontrollzeitpunkte ergeben sich folgende Ergebnisse (siehe Tabelle 16) für die Harnsäureausscheidung bei beiden Gruppen

Kontrollzeitraum 10. bis 20. Tag:

Bei beiden Gruppen erfolgt eine signifikante Senkung der Harnsäureausscheidung, die jedoch bei der Kontrollgruppe (mit Allopurinol) wesentlich höher liegt als bei der Prüfgruppe (mit Thiopurinol).

Kontrollzeitraum 20. bis 25. Tag:

Bei beiden Gruppen erfolgt ein signifikanter Anstieg der Harnsäureausscheidung nach Absetzen des Synthesehemmers.

Kontrollzeitraum 11. bis 21. Tag:

Bei der Kontrollgruppe (Allopurinol) ist eine signifikante Senkung der Harnsäureausscheidung gegeben, bei der Prüfgruppe (Thiopurinol) jedoch nicht.

Kontrollzeitraum 21. bis 25. Tag:

Bei beiden Gruppen erfolgt ein signifikanter Anstieg der Harnsäureausscheidung, der aber bei der Kontrollgruppe ausgeprägter ist.

Kontrollzeitraum 8. bis 17. Tag:

Bei der Kontrollgruppe (Allopurinol) ist eine signifikante Senkung der Harnsäureausscheidung vorhanden, bei der Prüfgruppe (Thiopurinol) hingegen nicht.

Kontrollzeitraum 17. bis 25. Tag:

Bei der Kontrollgruppe ist eine signifikante Steigerung der Harnsäureausscheidung gegeben, bei der Prüfgruppe jedoch nicht.

- d) Für die Paarvergleiche der Orotsäureausscheidung an den Kontrollzeitpunkten ergeben sich folgende Ergebnisse (siehe dazu Tabelle 17)

Kontrollzeitraum 10. bis 20. Tag:

Bei der Kontrollgruppe (Allopurin) findet ein signifikanter Anstieg der Orotsäureausscheidung statt, bei der Prüfgruppe (Thiopurinol) hingegen nicht.

Kontrollzeitraum 20. bis 25. Tag:

Bei beiden Gruppen sinkt die Orotsäureausscheidung nach Absetzen des Synthesehemmers, wobei die Signifikanz bei der Prüfgruppe weit ausgeprägter ist im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Kontrollzeitraum 11. bis 21. Tag:

Das Ergebnis entspricht dem vom 10. zum 20. Tag.

Kontrollzeitraum 21. bis 25. Tag:

Der Abfall der Orotsäureausscheidung in der Kontrollgruppe ist signifikant, während beim Abfall in der Prüfgruppe kein signifikanter Abfall gegeben ist.

Kontrollzeitraum 8. bis 17. Tag:

Bei beiden Gruppen ist ein signifikanter Anstieg der Orotsäureausscheidung von Versuchsperiode I zu Versuchsperiode II zu beobachten.

Kontrollzeitraum 17. bis 25. Tag:

Der Abfall der Orotsäureausscheidung von Versuchsperiode II mit Synthesehemmer zu Versuchsperiode III ohne Synthesehemmer ist nur bei der Kontrollgruppe (Allopurinol) signifikant.

Paarvergleiche - Orotsäureausscheidung

Tabelle 7x

Gruppe I - Thiopurinol

Zeit (Tag)	n	Mittelwert der Differenz $\bar{x}_D$	Standardabweichung der Differenz s_D	Standardabweichung der Mittelwertdifferenz $s_{\bar{x}_D}$	Prüfquotient t	Irrtumswahrscheinlichkeit
10. - 20.	4	-2,0550	1,6791	0,8395	2,4477	0,10
20. - 25.	4	2,3225	1,2604	0,6302	3,6852	0,05
11. - 21.	4	-0,7725	0,9179	0,4589	1,6831	0,20
21. - 25.	4	1,6675	1,0670	0,5335	3,1257	0,10
8. - 17.	5	-2,6200	0,7510	0,3361	7,8006	0,005
17. - 25.	4	2,1750	1,5055	0,7527	2,8895	0,10

Gruppe II - Allopurinol

Zeit (Tag)	n	Mittelwert der Differenz $\bar{x}_D$	Standardabweichung der Differenz s_D	Standardabweichung der Mittelwertdifferenz $s_{\bar{x}_D}$	Prüfquotient t	Irrtumswahrscheinlichkeit
10. - 20.	5	-6,9180	3,9477	1,7671	3,9185	0,02
20. - 25.	5	8,1480	3,4935	1,5637	5,2152	0,01
11. - 21.	5	-3,6180	2,8293	1,2669	2,8594	0,05
21. - 25.	5	4,7400	2,7592	1,2350	3,8413	0,02
8. - 17.	5	-7,5920	1,8003	0,8506	8,9339	0,001
17. - 21.	5	8,1620	2,3691	1,0604	7,7037	0,005

4) Paarvergleiche zwischen beiden Versuchsgruppen an ausgewählten Versuchstagen

Zum Vergleich der beiden Versuchsgruppen (Prüfgruppe mit Thiopurinol und Kontrollgruppe mit Allopurinol) wurden einzelne Kontrollzeitpunkte ausgewählt und die an diesen Tagen gemessenen Werte der beiden Gruppen (Prüfgruppe versus Kontrollgruppe) auf signifikant unterschiedliches Verhalten geprüft.

a) Es wurden folgende Kontrollzeitpunkte ausgewählt:

8. Versuchstag	}	Vorlaufperiode
10. Versuchstag		
11. Versuchstag		
12. Versuchstag	}	Prüfperiode
17. Versuchstag		
20. Versuchstag		
21. Versuchstag		
25. Versuchstag	}	Nachbeobachtungsperiode

b) Die errechneten Werte zu den Paarvergleichen zwischen beiden Gruppen bei der Harnsäureausscheidung ergeben sich aus Tabelle 18.

Kontrollzeitpunkt 8. Tag:

Die Harnsäureausscheidung der Prüfgruppe unterscheidet sich nicht signifikant von derjenigen der Kontrollgruppe.

Paarvergleiche: Harnsäureausscheidung Gruppe I versus Gruppe II

Zeit	n	Mittelwert der Differenz $\bar{x}_D$	Standardabweichung der Differenz s_D	Standardabweichung der Mittelwertdiff. $\bar{s}_{\bar{x}_D}$	Prüfquotient t	Fehlerrisikowahrscheinlichkeit
8.er Tag	5	-205,18	258,3993	115,5597	1,7755	0,20
10.er "	5	-60,40	372,4232	166,5527	0,3626	0,80
11.er "	5	-51,78	82,1810	226,1571	0,2289	0,90
12.er "	5	207,68	505,7025	36,7524	5,6507	0,005
17.er "	5	179,29	399,5765	178,6961	1,0033	0,40
20.er "	4	-73,22	115,6709	57,8354	1,2660	0,30
21.er "	4	46,90	99,6759	49,8379	0,9410	0,50
25.er "	4	-178,17	66,0851	33,0425	5,3922	0,02

Kontrollzeitpunkt 10. Tag:

Es ist keine Signifikanz in der Harnsäureausscheidung zwischen Prüfgruppe und Kontrollgruppe vorhanden.

Kontrollzeitpunkt 11. Tag:

Es ist keine Signifikanz in der Harnsäureausscheidung zwischen Prüfgruppe und Kontrollgruppe vorhanden.

Kontrollzeitpunkt 12. Tag:

Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 0,05 % unterscheidet sich die Ausscheidung der Prüfgruppe signifikant von derjenigen der Kontrollgruppe, das heißt die Senkung der Harnsäureausscheidung bei der Kontrollgruppe ist signifikant höher als die der Prüfgruppe.

Kontrollzeitpunkte 17., 20., 21. Tag:

Kein signifikanter Unterschied in der Harnsäureausscheidung zwischen beiden Gruppen vorhanden.

Kontrollzeitpunkt 25. Tag:

Am letzten Versuchstag zeigt sich wieder ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen, das heißt in der Kontrollgruppe wird signifikant mehr Harnsäure ausgeschieden als in der Prüfgruppe.

- c) Die errechneten Werte zu den Paarvergleichen zwischen beiden Gruppen bei der Orotsäureausscheidung sind aus Tabelle 19 zu ersehen.

Kontrollzeitpunkt 8. Tag:

Paarvergleiche: Orotsäureausscheidung Gruppe I versus Gruppe II

Zeit	n	Mittelwert der Differenz $\bar{x}_D$	Standardabweichung der Differenz s_D	Standardabweichung der Mittelwertdiff. $s_{\bar{x}_D}$	Prüfquotient t	Fehlerrisikowahrscheinlichkeit
8.er Tag	5	-2,272	3,1938	1,4283	1,5906	0,20
10.er "	5	-2,196	3,0073	1,3449	1,6328	0,20
11.er "	5	-1,774	3,1153	1,3932	1,2733	0,30
12.er "	5	-6,014	3,2160	1,4382	4,1813	0,02
17.er "	5	-6,754	4,5168	2,0199	3,3437	0,05
20.er "	4	-8,610	4,7007	2,3503	3,6633	0,05
21.er "	4	-5,487	3,4650	1,7325	3,1673	0,10
25.er "	4	-2,142	1,4183	0,7092	3,0210	0,10

Die Orotsäureausscheidung zwischen Gruppe I und Gruppe II zeigt keinen signifikanten Unterschied.

Kontrollzeitpunkte 10. und 11. Tag:

Die Orotsäureausscheidung zwischen Gruppe I und Gruppe II zeigt keinen signifikanten Unterschied.

Kontrollzeitpunkt 12. Tag:

Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 0,2 % unterscheidet sich die Orotsäureausscheidung der Prüfgruppe von derjenigen der Kontrollgruppe signifikant, das heißt die Ausscheidung der Prüfgruppe liegt signifikant niedriger als diejenige der Kontrollgruppe.

Kontrollzeitpunkt 17. und 21. Tag:

Die Orotsäureausscheidung der Prüfgruppe liegt mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 0,5 % signifikant niedriger als diejenige der Kontrollgruppe.

Kontrollzeitpunkt 21. und 25. Tag:

An diesen beiden Tagen besteht zwischen der Ausscheidung der Prüfgruppe gegenüber derjenigen der Kontrollgruppe kein signifikanter Unterschied.

VERGLEICHE MIT ERGEBNISSEN ANDERER AUTOREN

1) Angriffspunkte der Harnsäuresynthese-Hemmstoffe "Allopurinol" und "Thiopurinol" im Stoffwechsel

Wie in der Einleitung (siehe Seite 7 ff) schon ausgeführt wurde, liegt der biochemische Angriffspunkt der beiden Harnsäuresynthesehemmstoffe "Allopurinol" und "Thiopurinol" im intermediären Stoffwechsel der Purin- und Pyrimidinkörper.

a) Allopurinol

Der erste Schritt der Purinbiosynthese ist die Bildung von 5-Phosphoribosyl-1-Amin aus 5-Phosphoribosyl-1-Pyrophosphat (PRPP) und Glutamin durch die Glutamin-Phosphoribosyl-Pyrophosphat-Amidotransferase. Bei einer erhöhten Purinsynthese müßte also diese Stoffwechselreaktion gesteigert sein, die durch einen Rückkopplungsmechanismus kontrolliert wird.

Bei einer gestörten Bildung der Nucleotide Guanylsäure, Inosinsäure und Adenylsäure fällt die Rückkopplungshemmung auf die Amidotransferase weg, so daß eine gesteigerte "Purin-de nove-Synthese" einsetzt.

Die Purine Guanin und Hypoxanthin werden in Guanyl- und Inosinsäure umgewandelt mittels der Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyl-Transferase (HG-PRT). Beim Fehlen oder einer Hemmung dieses Enzyms ist die Bildung der für den Rückkopplungsmechanismus wichtigen Nucleotide vermindert. Guanin und Hypoxanthin werden dann in Leber und Dünndarm durch die Xanthinoxidase

vermehrt in Harnsäure überführt [13].

In Übersicht 6 sind schematisch diese Stoffwechselvorgänge mit ihren verschiedenartigen Wechselwirkungen skizziert (entnommen aus GOTTESBÜREN [13]).

Nach LESCH et al. [23] spielt die HG-PRT im Purinstoffwechsel und somit auch im Auftreten der jeweiligen Endprodukte eine wichtige Rolle, da die Rate der "Purin-de novo-Synthese" durch den zellulären Aktivitätsspiegel der HG-PRT reguliert wird.

Das Hydroxy-Pyrazolo-Pyrimidin "Allopurinol" greift effektiv in den Endabbau der Purinstoffe durch die Hemmung der Xanthinoxidase ein, doch ist dies nicht der einzige Angriffspunkt für das Wirkungsziel einer verminderten Harnsäureproduktion. Allopurinol vermag auch hemmend in die "Purin-de novo-Synthese" einzugreifen durch ein aus Allopurinol und Phosphoribosyl-Pyrophosphat (PRPP) gebildetes Allopurinol-Ribonucleotid, dessen Bildung somit von der Anwesenheit von PRPP und HG-PRT abhängig ist [23].

Es verbraucht somit das für die "Purin-de novo-Synthese" wichtige PRPP, wie FOX et al. durch Untersuchungen an Erythrocyten festgestellt haben [10b].

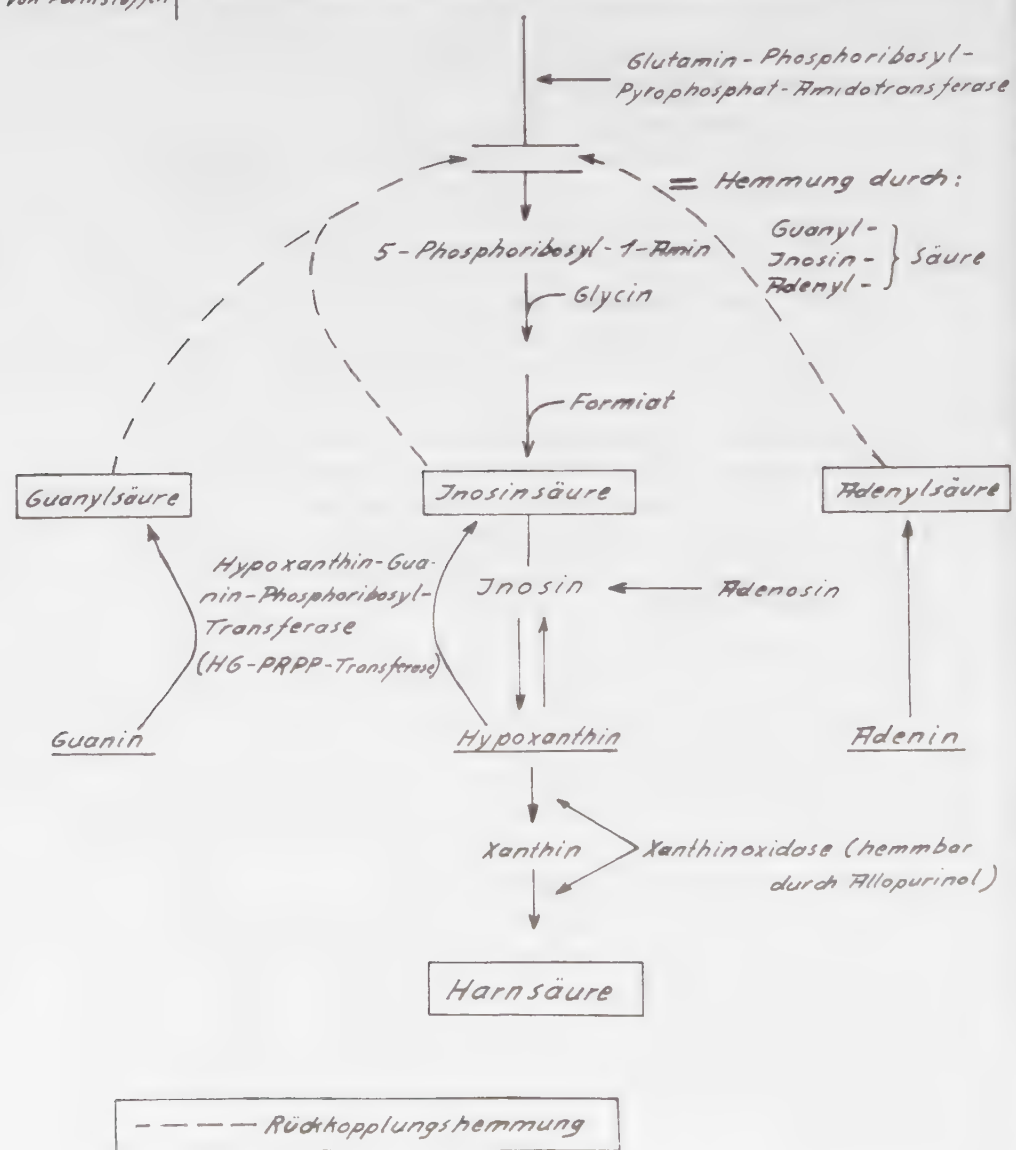
Im pathologischen Problemkreis "Gicht" hat der Harnsäuresynthesehemmer "Allopurinol" nicht nur einen Einfluß auf die "Purin-de novo-Synthese", sondern auch auf den Pyrimidinstoffwechsel.

Allopurinol interferiert mit der "Pyrimidin-de novo-Synthese" durch die Hemmung eines der beiden oder auch beider Enzyme, nämlich der Orotid-Phosphoribosyl-Transferase (OPRT) und der Orotidyl-Decarboxylase (ODC) [2]. Diese hemmende Wirkung auf die beiden Enzyme des Pyrimidinstoffwechsels wird jedoch

Purinbiosynthese

Erster Schritt der
"de novo" Synthese
von Purinstoffen

5-Phosphoribosyl-1-Pyrophosphat (PRPP) + Glutamin



durch Zunahme der Aktivität dieser Enzyme kompensiert, so daß eher eine Steigerung der Pyrimidinendprodukte Orotidine und Orotsäure zu erwarten ist bei Allopurinolbehandlung [20].

Die Zunahme der beiden Endenzyme des Pyrimidinstoffwechsels ist nach FOX et al. [10b] eine ausgleichende Antwort des Organismus auf die Hemmwirkung des Allopurinol, um einen Pyrimidinhungerzustand im Organismus zu verhindern.

Dieser hemmende Effekt des Allopurinol auf die beiden Endenzyme des Pyrimidinstoffwechsels ist nach FOX et al. [10b] auf ein Umwandlungsprodukt dieses Stoffes, nämlich auf ein Allopurinol-Ribotid, zurückzuführen.

FYFE et al. [11] führen die bei Allopurinolbehandlung auftretende vermehrte Orotidin- und Orotsäureausscheidung im Urin ebenfalls auf eine Hemmwirkung, und zwar eine kompetitive eines Allopurinolabbauproduktes (ein Oxipurinol-Ribonucleotid) nämlich auf die Orotidin-5-Phosphat-Decarboxylase zurück.

b) Thiopurinol

Der dem Allopurinol verwandte Synthesehemmer Thiopurinol (Mercapto-4-Pyrazolo-3,4-d-Pyrimidin) führt im Prinzip zum selben therapeutischen Ziel, nämlich zu einer Senkung der für die Gichtentstehung größtenteils verantwortlichen Harnsäureüberproduktion.

Es scheinen aber hinsichtlich des Angriffspunktes im Intermediärstoffwechsel der Purin- und Pyrimidinkörper einige Unterschiede zum Allopurinol zu bestehen trotz der nahen Verwandtschaft dieser beiden Harnsäuresynthesehemmer.

Diese unterschiedlichen Angriffspunkte im Auf- und Abbau der Purin- und Pyrimidinkörper zeigen sich durch die quantitativen, aber in erster Linie durch die qualitativen Unterschiede im Verhalten der im Urin ausgeschiedenen Abbauprodukte der Purin- und Pyrimidinkörper. DELBARRE et al. [6a] wiesen an sechshundfünfzig Gichtpatienten nach, daß bei Thiopurinolbehandlung die Verminderung der Harnsäurespiegel in Harn und Serum nicht von einem Anstieg der entsprechenden Xanthin- und Hypoxanthinspiegel begleitet wurde. Dies läßt annehmen, daß die Hemmung der Xanthinoxidase nicht der prädominierende Mechanismus der Thiopurinoltherapie ist.

SERRE et al. [31] bestätigen diese Ergebnisse durch die erfolgreiche Behandlung von fünfzig Gichtpatienten.

Auf den Pyrimidinstoffwechsel wirkt nach DELBARRE et al. [6a] das Thiopurinol wie ein "synthetisches" Nucleotid, das durch Hemmung der 5-Phosphoribosyl-Pyrophosphat-Amidotransferase wirkt und erfordert, daß die Substanz durch das Enzym HG-PRT ribophosphoryliert wird. Dieser Mechanismus wurde aufgrund der Wirkungslosigkeit von Thiopurinol bei völligem oder teilweisem HG-PRT-Mangel angenommen.

Der genaue Wirkmechanismus von Thiopurinol ist bis heute noch nicht aufgeklärt, aber nach den bisherigen Versuchsergebnissen mit Thiopurinol lassen sich eventuell günstigere Wirkungen erzielen als mit dem Gichtmittel der Wahl Allopurinol. Es ergeben sich nämlich bei längerer Allopurinolbehandlung einige Nebenwirkungen, die unter Thiopurinolbehandlung aufgrund seiner anderen Wirkungsweise eventuell nicht auftreten.

So wiesen WATTS et al. [34] Xanthin-, Hypoxanthin- und Oxipurinolablagerungen im Muskelgewebe von mit Allopurinol behandelten Patienten nach.

ABLIN et al. [1] beschrieben Nephropathien, die durch Xanthin verursacht waren.

FOX et al. [10a] berichteten über Störungen des Pyrimidinstoffwechsels durch Orotazidurie und Orotidinurie.

Die eventuell günstigere Wirkung von Thiopurinol auf den Organismus im Vergleich zu Allopurinol untermauert GRAHAME et al. [15] mit seinen Versuchen, die wie folgt nachweisen:

Erstens das Fehlen einer Xanthurie,
zweitens das Fehlen einer Wirkung auf den Pyrimidinstoffwechsel in Form von Orotidin- und Orotacidurie,
drittens durch den Befund beim Schwein, daß keine Gewebeeinkorporation vorliegt.

Wenn Thiopurinol nicht so drastisch senkend auf den Harnsäurepool im Organismus wirkt, dürfte dies auch auf die geringere Resorption im Darm zurückzuführen sein. GRAHAME et al. [15] wiesen mit radioaktiven Substanzen nach, daß von Allopurinol noch 6 %, von Thiopurinol hingegen noch 36 % in den Faeces vorhanden waren.

2) Therapeutische Effekte der Harnsäuresynthesehemmer Allopurinol und Thiopurinol anhand von Ergebnissen aus der Literatur

BEARDMORE et al. [3] untersuchten bei drei Gichtpatienten die Ausscheidung von Orotsäure, Orotidine und Harnsäure unter einer längeren Allopurinoltherapie.

Ausscheidung von Pyrimidinmetaboliten bei Allopurinoltherapie

Pati- ent	Behand- lungsdauer [Tage]	Orotsäure- ausscheidung [mg/24h]	Orotidin- ausscheidung [mg/24h]	Harnsäure- ausscheidung [mg/24h]	Allopurinol [mg/Tag]
R.R.	Kontrolle	< 2,0	6,9	898	—
	3	8,6	37,8	506	800
	5	—	149,2	552	800
	9	16,7	97,5	206	800
	81	11,5	83,0	213	800
H. H.	Kontrolle	< 2,0	< 2,0	512	—
	14	30,7	46,2	255	400
	32	13,4	35,5	144	400
	70	—	—	243	400
J. E.	Kontrolle	—	—	438	—
	14	11,3	112,4	361	400
	56	11,2	83,4	261	400
	120	11,7	94,4	—	400

Eigene Ergebnisse - Mittelwert (n=5)

Kollektiv	Kontrolle	6,8		1.360	—
	1	10,8		980	300
	3	15,7		920	300
	5	13,0		840	300
	8	13,8		750	300
	9	13,9		820	300

Ergebnisse von Beardmore et al. (1972 [3])

Tabelle 20 veranschaulicht diese Ergebnisse. Der Tabelle angefügt ist noch ein teilweiser Überblick über die eigenen Ergebnisse, um Vergleiche anstellen zu können.

Größenordnungsmäßig gesehen ergeben sich relativ ähnliche Ergebnisse. Der grundlegende Unterschied zwischen den beiden Ergebnissen besteht nur darin, daß in unserem Versuch künstlich durch exogene Purinstoffzufuhr in Form von Hefe-RNS ein erhöhter Harnsäurepool produziert wurde, während bei BEARD-MORE der Ausgangspunkt für die Therapie eine gestörte Stoffwechsellage war.

Ein Vergleich zwischen unseren Ergebnissen und vor allem denen des ersten Patienten (R.R.) von BEARD-MORE läßt erkennen, daß nach etwa acht bis neun Tagen ein maximaler Effekt des Synthesehemmers Allopurinol erreicht ist.

Daß Allopurinoltherapie einen starken Einfluß auf die endogene Produktion des Purinabbauproduktes Harnsäure hat, beweisen die Ergebnisse von KELLEY et al. [21].

Tabelle 21 zeigt die Harnsäureausscheidung bei purinfreier Diät und normaler Kost und darauffolgender zusätzlicher Gabe von Allopurinol. Hier zeigt sich der Effekt von Allopurinol, beim Menschen die Harnsäurewerte auch dann noch zu senken, wenn die Ausgangswerte bereits normal waren. Im Gegensatz hierzu zeigt Thiopurinol nur einen Effekt bei überschüssiger Harnsäureproduktion [31].

Tabelle 22 zeigt die Wirkung von Thiopurinol auf die Harnsäureausscheidung zweier Gichtkranker. Patient Nr. 2 war vorher mit Allopurinol behandelt worden. Zwischen der Allopurinolbehandlung und der Behandlung

Harnsäure-Ausscheidung unter verschiedenen Bedingungen (Diät; Allopurinolther.)

Patient	Versuchsbedingungen	Harnsäureausscheidung [mg/24h]
E. D. B.	purinfreie Diät (pf.D.)	368
	(pf.D.) + Allopurinol [200mg/die]	281
	(pf.D.) + Allopurinol [400mg/die]	162
W. J.	normale Diät (n.D.)	304
	(n.D.) + Allopurinol [200mg/die]	252
	(n.D.) + Allopurinol [400mg/die]	188
B. D. C.	normale Diät (n.D.)	677
	(n.D.) + Allopurinol [200mg/die]	374
	(n.D.) + Allopurinol [400mg/die]	280

Ergebnisse von Kelley et al. (1970, [21])

Harnsäure-Ausscheidung unter Thiopurinoltherapie

Patient Nr.	Behand- lungs- dauer [Tag]	Thiopurinol [mg/24h]	Harnsäure- Ausscheidung [mg/24h]	Harnsäurespie- gel im Serum
1	1	0	660	
	2	50	-	
	3	100	485	
	4	150	445	
	5	400	340	
	6	400	406	
	7	400	315	
2	1	0	416	5,7
	2	0	511	5,7
	3	50	555	5,9
	4	100	530	5,5
	5	200	512	4,0
	6	300	458	3,9
	7	400	473	3,6

aus Kelley et al. [21]

Eigene Ergebnisse - Mittelwerte (n=5)

Kollektiv	Verlaufsperiode	0	1.300	
	1	300	1.200	
	2	300	1.020	
	3	300	1.020	
	4	300	1.040	
	5	300	950	
	6	300	940	
	7	300	890	
	8	300	720	

mit Thiopurinol lag nur ein behandlungsfreies Intervall von einer Woche, was nicht ausreichte, den Harnsäurepool auf die alten Werte zurückkommen zu lassen. Daß aber die Thiopurinoltherapie nicht ohne Wirkung war, zeigt das Verhalten des Serumharnsäurespiegels, der hier zu dieser Beweisführung angefügt wurde. Auf die Harnsäureausscheidung im Urin hatte die Therapie jedoch keinen Einfluß im Sinne einer Senkung.

Tabelle 22 sind noch zum Vergleich die Mittelwerte ($n = 5$) unserer Ergebnisse angefügt. Eine Vergleichbarkeit zwischen den Ergebnissen von KELLEY et al. [21] und unseren Ergebnissen ist eher mit dem Patienten Nr. 1 von KELLEY gegeben, da die Voraussetzungen zu unserem Versuch entsprechender sind (Patient Nr. 2 war ja mit Allopurinol schon kurz vorher behandelt worden). Es zeigt sich hier zwischen dem kontinuierlichen Abfall der Harnsäureausscheidung bei Patient Nr. 1 und unseren Werten ein sehr ähnliches Verhalten:

Bei KELLEY'S Patient fällt innerhalb der sechstägigen Behandlung die Harnsäureausscheidung auf weniger als die Hälfte der Ausgangswerte ab. In unserem Versuchskollektiv ist nach siebentägiger Behandlungsdauer mit Thiopurinol ein ähnlich starker kontinuierlicher Abfall der Harnsäureausscheidung erreicht.

Vielleicht liegt der geringe Unterschied in der Senkung der Harnsäureausscheidung zwischen KELLEY'S und unseren Ergebnissen in der unterschiedlichen Thiopurindosis. KELLEY gab an den letzten drei Behandlungstagen 400 mg Thiopurinol pro Tag, während unsere Versuchspersonen nur 300 mg/Tag erhielten.

Anhand dieser vergleichbaren Ergebnisse zeigt sich, daß die pharmakologischen Wirkungen des Thiopurinol

an Gichtkranken auch an gesunden Probanden voll reproduzierbar ist oder umgekehrt. Ebenso scheint die Herkunft der Harnsäurevorstufe (Purinstoffe) - ob nun exogen (unser Versuch) oder endogen (Patient von KELLEY7 - für die Wirkungen des Thiopurinol keine Rolle zu spielen ähnlich wie beim bekannten Harnsäuresynthesehemmstoff Allopurinol.

3) Gegenüberstellung von Harnsäure- und Orotsäureausscheidung im 24 h-Urin

In Abbildung 13 und 14 sind die im Urin erscheinenden Abbauprodukte des Purinstoffwechsels (Harnsäure) und Pyrimidinstoffwechsels (Orotsäure) in ihrer pro Tag ausgeschiedenen Menge spiegelbildlich gegenübergestellt.

Abbildung 13 veranschaulicht das Verhalten der beiden Parameter Harnsäure und Orotsäure unter dem Einfluß des Harnsäuresynthesehemmers Allopurinol bei unserer Kontrollgruppe, während Abbildung 14 das Verhalten der beiden Parameter bei unserer Versuchsgruppe unter Thiopurinoleinfluß zeigt.

Schon bei oberflächlicher Betrachtung beider Graphiken fällt sowohl die plötzlichere Wirkung des Allopurinol auf die Senkung der Harnsäureausscheidung gegenüber der Wirkung des Thiopurinol auf als auch die bei der Allopurinolgruppe stark vermehrte Orotsäureausscheidung im Vergleich zur Thiopurinolgruppe.

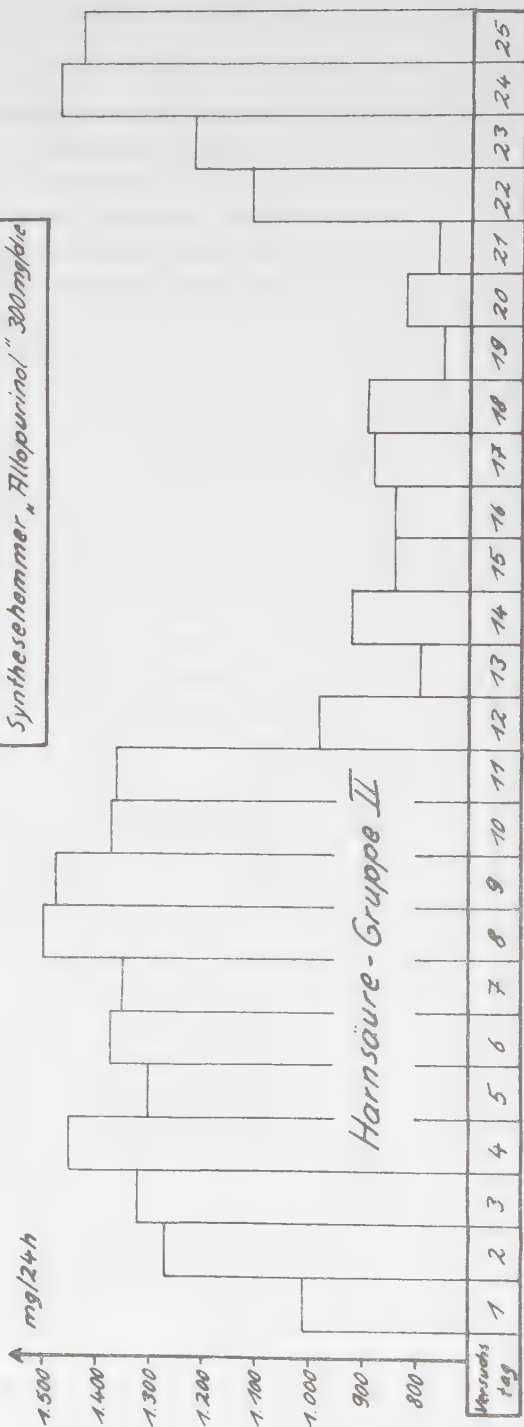
Ein entscheidender Unterschied zwischen der Wirkung von Allopurinol und der von Thiopurinol besteht in dem unterschiedlichen Einfluß auf den Pyrimidinstoffwechsel, was sich durch die unterschiedliche Orotsäureausscheidung offenbart.

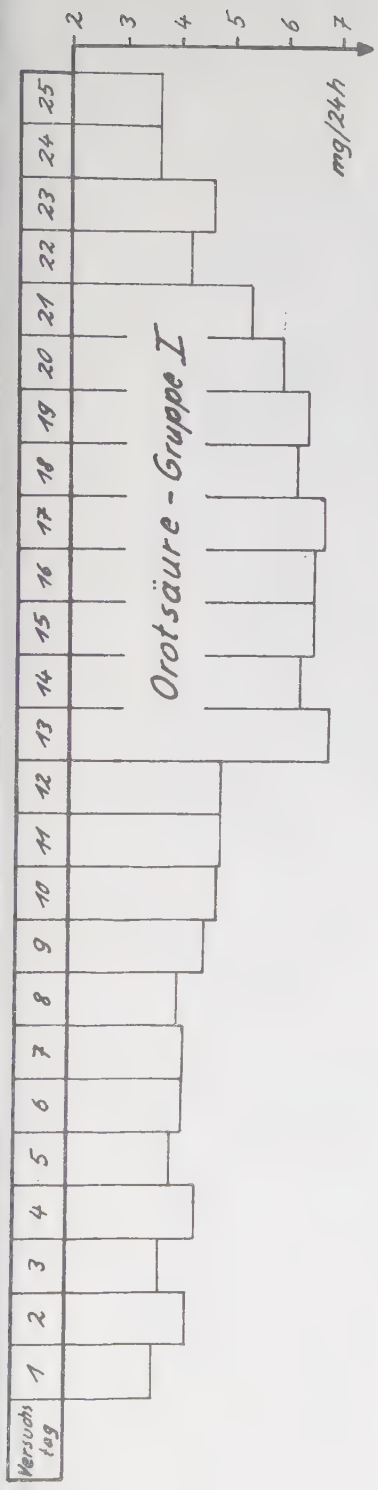
In unserem Versuch ergab sich eine gewisse Überraschung bezüglich dieser Effekte, obwohl GRAHAME et al. [15] schon Ähnliches beobachtet hatten.

Spiegelbildliche Gegenüberstellung der Harn- und Orotsäureausscheidung (Mittelwerte, $n = 5$)



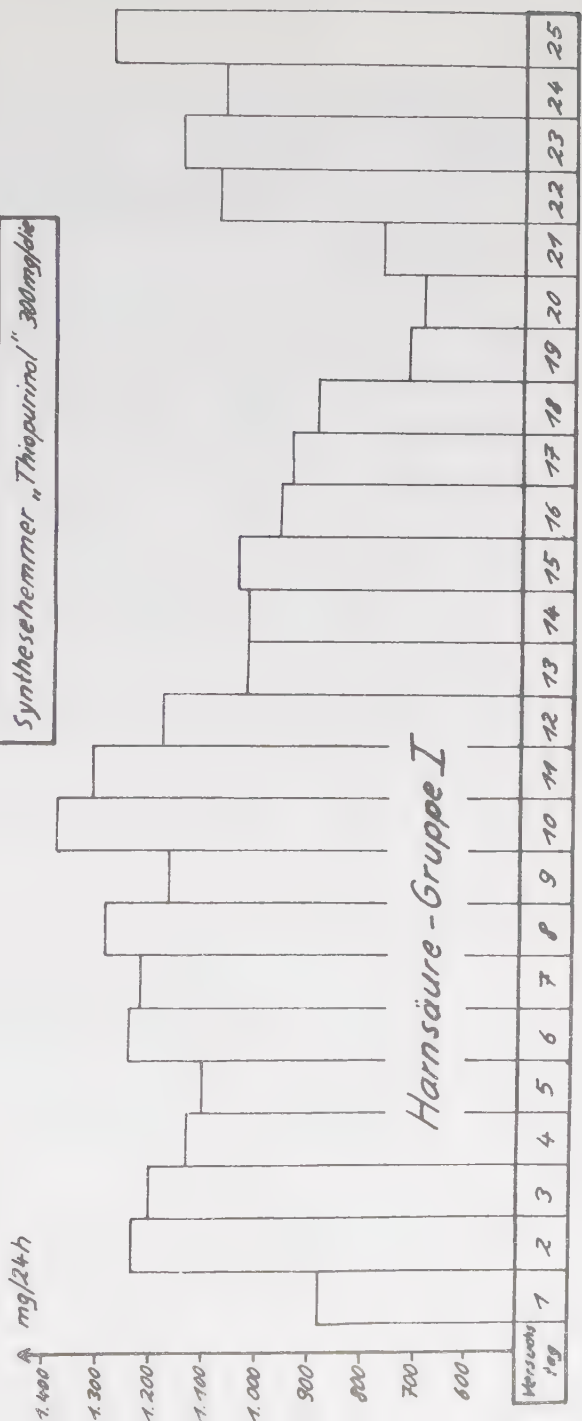
Synthesehemmer „Allopurinol“ 300mg/bie





Orotsäure-Gruppe I

Synthesehemmer „Thiopurinol“ 300mg/kg



Harnsäure-Gruppe I

Wie aus beiden Abbildungen ersichtlich ist, steigt bei Anwendung von Allopurinol die Orotsäureausscheidung von durchschnittlich 6 mg/Tag auf durchschnittlich über 14 mg/Tag an, was einer Steigerung um 8 mg bzw. um mehr als das 2,3fache entspricht.

Die Orotsäureausscheidung unter Thiopurinolverabreichung hingegen erhöht sich nur kaum, und zwar steigt sie von durchschnittlich 5 mg/Tag auf durchschnittlich 6,5 mg/Tag an, was einer Steigerung um 1,5 mg bzw. um weniger als das 0,25fache entspricht.

Dieser stark ins Auge fallende Unterschied bzw. die nur geringfügige Steigerung der Orotsäureausscheidung unter Thiopurinoltherapie läßt natürlich einige Rückschlüsse auf den Pyrimidinstoffwechsel zu und liefert außerdem wieder einen Diskussionsbeitrag zu dem Problem, ob eventuell auftretende Nebenwirkungen des bisher auf dem Markt befindlichen Harnsäuresynthesehemmers unter einer Thiopurinoltherapie nicht auftreten würden oder ob vielleicht gewisse Nebenwirkungen des Harnsäuresynthesehemmers Allopurinol durch alternierende oder - gleichzeitige Gabe von Thiopurinol ausgeglichen bzw. abgeschwächt werden könnten.

Im umgekehrten Falle könnte sich eventuell Allopurinol als günstiges Komplement zu Thiopurinol erweisen.

Diese Probleme bleiben aber noch weiteren Laborversuchen vorbehalten und müssen sich dann auch noch in der täglichen Praxis und Langzeitbehandlung bewähren und bestätigen.

XI

ZUSAMMENFASSUNG

1) Verhalten der Harnsäureausscheidung

- a) Bei sehr intensiver exogener Zufuhr von Purinstoffen in Form von Hefe-RNS (456 mg/die) unter den Bedingungen einer purinarmen modifizierten Formeldiät erreicht die Harnsäureausscheidung im 24 h-Urin nach etwa drei Tagen einen Wert, der im Bereich eines "steady state" der weiteren Versuchstage liegt, das nur geringen Schwankungen unterworfen ist.
- b) Bei gleichbleibenden obigen Bedingungen führt die orale einmalige Gabe des Harnsäuresynthesehemmers Allopurinol (300 mg/die) zu einem signifikanten Abfall der Harnsäureausscheidung, der sich im Verlauf von etwa drei Tagen einem nahezu gleichbleibenden Minimum an Harnsäureausscheidung pro Tag im Urin nähert.

Bei Absetzen von Allopurinol steigt die Harnsäureausscheidung rasch wieder an und hat nach etwa drei Tagen die Ausgangswerte ohne Synthesehemmer erreicht.

- c) Bei Anwendung des Harnsäuresynthesehemmers Thiopurinol (300 mg/die) fällt im Gegensatz zur Allopurinoltherapie die Harnsäureausscheidung nicht so plötzlich ab und erreicht erst nach etwa acht Tagen ein etwa gleichbleibendes Minimum, das in seiner Quantität dem der Allopurinoltherapie vergleichbar ist.

Nach Absetzen des Thiopurinol steigt die Harnsäureausscheidung im 24 h-Urin erst nach etwa vier Tagen auf die Ausgangswerte ohne Synthesehemmer an.

2) Verhalten der Orotsäureausscheidung

- a) Bei den unter 1) a) genannten Bedingungen erreicht die Orotsäureausscheidung im 24 h-Urin in der Prüfgruppe bereits am zweiten Tag etwa den "steady state"-Wert dieser Vorlaufperiode. In der Kontrollgruppe hingegen sind praktisch zwei "steady state"-Werte zu beobachten:

Der erste Wert (um 5 mg/24 h) wird ebenfalls schon am zweiten Tag erreicht,

der zweite Wert pendelt sich ab dem achten Tag bei etwa 6,5 mg/24 h ein.

- b) Bei gleichbleibenden unter 1) a) genannten Versuchsbedingungen führt die Einnahme des Harnsäuresynthesehemmers Allopurinol (300 mg/die, einmal täglich oral) zu einem Anstieg der Orotsäureausscheidung von 6 - 7 mg/24 h auf 10,8 mg/24 h am ersten Tag der Einnahme und steigert sich nach dem zweiten Tag auf Werte um 13 mg/24 h. Während also bereits am ersten Tag der Anstieg mit 4,3 mg nahezu 60 % beträgt, liegt der Anstieg auf die gesamte Prüfperiode bei 100 %.

Nach Absetzen des Synthesehemmers fällt die Ausscheidung der Orotsäure auf 8 mg/24 h ab und erreicht nach drei Tagen wieder die Ausgangswerte vor Einnahme des Synthesehemmers.

- c) Bei Einnahme der Prüfsubstanz Thiopurinol als Harnsäuresynthesehemmer tritt erst mit einem eintägigen Verzögerungseffekt eine sichtbare Wirkung auf die Orotsäureausscheidung ein, und zwar steigt sie von 4 - 5 mg/24 h auf einen mittleren Wert (ein ziemlich konstantes steady-state während der Prüfperiode) von 6,4 mg/24 h an, was einer Steigerung um 20 % entspricht, also weit unter jener liegt,

die bei Allopurinoleinnahme (hier eine Steigerung der Ausscheidung um das Doppelte) beobachtet wurde.

Bei Absetzen des Thiopurinol geht die Orotsäureausscheidung auf die Ausgangswerte vor Einnahme des Synthesehemmers zurück.

Diese großen Unterschiede der Orotsäureausscheidung zwischen der Prüfsubstanz "Thiopurinol" und der Kontrollsubstanz "Allopurinol" war für uns sehr überraschend, da wir zumindest nicht mit einem derart deutlichen Ergebnis gerechnet hatten.

XII

LITERATURANGABEN

- 1 ABLIN et al.:
Metabolism 21/8, 771 (1972)
- 2 BEARDMORE T. D., and KELLEY, W.N.:
Increase of 2 essential enzymes in pyrimidin bio-
synthesis resulting from Allopurinol therapie
Clin. Res. 19, 27 (1971)
- 3 BEARDMORE T. D., CASHMAN, J. S., KELLEY, W.N.:
Mechanism of Allopurinol-mediated increase in
enzyme activity in man
J Clin invest 51, 1823 - 32 (Juli 1972)
- 4 BERGMANN, F., and DIKSTEIN, S.:
Studies on uric acid and related compounds.
III Observations on the specifiticity of mammalian
xanthine oxidase
J. Biol. Chem. 223, 765 (1956)
- 5 BOOTHBY und DU BOIS, ALBRITTON, E. C.(Herausgeber):
Handbook of biologicala data: Standard values in
nutrition and metabolism
W. B. Saunders, Philadelphia (1954), S. 241
- 6a DELLBARRE, F., AUSCHER, C., DE GERY, A., BROUILHET,
H. and OLIVIER, J. L.:
Le Traitement de la dyspuinie gouttense par la mer-
captopyrazolopyridine (MPP:Thiopurinol)
Presse Med. 49, 2329 (1968)

- 6b DELLBARRE, F., AUSCHER, C., DE GERY, A., BROUILHET, H. and OLIVIER, J.L.:
Le traitement de la dyspurinie gouttense par la mercaptopyrazolopyrimidine (MPP:Thiopurinol)
Presse Med. 76, 2329 (1968)
- 7 DU BOIS, D. und DUBOIS, E.F.:
Nomogramm zur Bestimmung der Körperoberfläche
Arch. intern. Med. 17, 863 (1916)
- 8 ERRERA, M. and GREENSTEIN, J. P.:
Phosphate-activated glutaminase in kidney and other tissues
J. Biol. Chem. 187, 495 (1949)
- 9 FLAKS, J. G., ERWIN, M. J. and BUCHANAN, J. M.:
Biosynthesis of the purines. XVI The synthesis of adenosine-5'-phosphate and 5'-amino-4imidazolo-carboxamide ribotide by a nucleotide pyrophosphorylase
J. Biol. Chem. 228, 201 (1957)
- 10a FOX, J. H., WYNGAARDEN, J. B. and KELLEY, W.N.:
Depletion of erythrocyte phosphoribosylpyrophosphate in man. A newly observed effect of Allopurinol
New Eng. J. Med. 283, 1177 (1970)
- 10b FOX, R. M., ROYSE-SMITH, D. and O'SULLIVAN, W.J.:
Orotidinuria induced by Allopurinol
Science 168, 861 (1970)
- 11 FYFE, J., MILLER, R., KRENITSKY, T.:
Kinetic properties and inhibition of orotidine-5'-phosphate decarboxylase effects of some Allopurinol metabolites on the enzyme
J. Biol. Chem. 248, 3801-9 (Juni 1973)

- 12 GEIGY, I.R. AG:
 Documenta Geigy: Wissenschaftliche Tabellen
 Basel, Schweiz (1969)

- 13 GOTTESBUEREN, H., STROHMEYER, G.:
 Was ist gesichert in der Therapie der Gicht?
 Internist (Berlin) 12, 518-21 (Dezember 1971)

- 14 GUENTHER, R., KNAPP, E.:
 Der Einfluß von Allopurinol auf Harnsäure, Krea-
 tinin, Nüchternblutzucker und Plasmalipide bei
 Gichtkranken
 Klin. Wochenschr. (Wien) 82, 78-82 (Januar 1970)

- 15 GRAHAME, R., SIMÜNDS, H., CADENHEAD, A., DEAN, B.M.:
 Metabolic studies of Thiopurinol in man and the pig
 ADV EXP Med. Biol. 41, 597-605 (1974)

- 16 HARTMANN, S.C. and BUCHANAN, J. M.:
 Biosynthesis of the purines. XXI 5-Phosphoribosyl-
 pyrophosphateamidotransferase
 J. Biol. Chem. 233, 451 (1958)

- 17 HIGGINS, J. T., ASTHON, D.M., SPEAS, M. and WYN-
 GAARDEN, J. B.:
 An evaluation of relative roles of substrate diver-
 sion and feedback inhibition in the control of pu-
 rine synthesis
 Clin. Res. 9, 181 (1961)

- 18 JORGENSEN, S. and PAULSEN, H. E.:
 Enzymic determination of hypoxanthine and xanthine
 in human plasma and urine
 Acta Pharmacol. (Kobenhavn) 11, 223 (1955)

- 19 KELLEY, W. N., FOX, J. H. and WYNGAARDEN, J.B.:
Regulation of purine biosynthesis in cultured human
cells. I. Effects of orotic acid
Biochem. Biophys. Acta 215, 512 (1970)
- 20 KELLEY, W.N. and WYNGAARDEN, J. B.:
Effects of Allopurinol and Oxipurinol on prine
synthesis in cultured human cells
J. Clin. Invest. 49, 602 (1970)
- 21 KELLEY, W.N. and WYNGAARDEN, J.B.:
The effect of dietary purine restriction, Allopur-
inol and Oxipurinol on the urinary excretion of
ultraviolet absorbing compounds
Clin. Chem. 16, 707 (1970)
- 22 KELLEY, W. N. and BEARDMORE, T. D.:
Allopurinol alteration in pyrimidine metabolism in
man Science 169, 388 (1970)
- 23 LESCH, M.:
The purine revolution
N engl. J. Med. 283, 1221-2 (November 1970)
- 24 LUKENS, L.N. and HERRINGTON, K.A.:
Enzymic formation of 6-mercaptapurine ribotide
Biochem Biophys. Acta 24, 432 (1957)
- 25 PRAETORIUS, E. and POULSEN, H.:
Enzymatic determination of uric acid with detailed
directions
Scand. I. Lab. Invest. 5, 273 (1953)
- 26 ROBINS, R.K.:
Potential purine antagonists. I Synthesis of some
4,6-substituted pyrazolo 3,4-d-pyrimidines
J. Amer. Chem. Soc. 78, 784 (1956)

- 27 RUNDLES, R.W., METZ, E.N. and SILBERMANN, H.R.:
Allopurinol in the treatment of gout
Ann. Intern. Med. 64, 229 (1966)
- 28 SAYRE, F.W. and ROBERTS, E.:
Preparation and some properties of a phosphate-
activated glutaminase from kidneys
J. Biol. Chem. 233, 1128 (1958)
- 29 COUSE, R.A. and WIDDOWSON, E.M.:
The Composititans of Foods
Val 267 her Mogistry's Stationary office London(1960)
- 30 SEGAL, S. and WYNGAARDEN, J.B.:
Plasma glutamine and oxypurine content in patients
with gout
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 88, 342 (1955)
- 31 SERRE et al.:
Sem. Hop. (Paris) 46, 3295 (1970)
- 32 STAJNER, A, SUVA, J. and MUSIL, F.:
The Determination of orotic acid in the blood serum
by means of the spectrophotometric method
Experientia (Schweiz) 24, 2 (1968)
- 33 STEVENS, D.L., SKEGGS, L.T., CHASSON, A.L.,
GRADY, H.J. and STANLEY, M.A.:
J. clin. Path. 35, 83 (1961)
- 34 WATTS et al.:
Quart. J. Med. 15, 1-14,7 (1971)
- 35 WYNGAARDEN, J.B., RUNDLES, R.W. and Metz, E.N.:

Allopurinol in the treatment of gout
Ann. Intern. Med. 62, 842 (1965)

- 36 ZÖLLNER, N.:
Eine einfache Modifikation der enzymatischen Harnsäurebestimmung. Normalwerte in der deutschen Bevölkerung
2. Klin. Chem. 1. Jahrgang Heft 6 S.178 (1963)

Herrn Professor Dr. N. Zöllner möchte ich einerseits dafür danken, daß er mir die Möglichkeit gab, diese Arbeit an seiner Klinik durchzuführen andererseits dafür, daß er mir freundlicherweise zu dieser Dissertation das Thema überließ.

Danken möchte ich auch Herrn Dr. Griebisch, der mir mit seinem Rat stets zur Seite stand, wenn es seine Arbeit zuließ, und danken möchte ich auch Frau Christa Weber, die meine Arbeit mit Sorgfalt ins Reine schrieb.

Mein Dank gilt auch Firma Madaus & Co, Köln, die durch ihre Unterstützung wesentlich zur Durchführung des experimentellen Teiles dieser Arbeit beigetragen hat.

Ein "Danke" auch allen hier Nichtgenannten, die dennoch mehr oder weniger zur Durchführung und zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

L E B E N S L A U F

Am 15. August 1948 erblickte ich als zweites der sechs Kinder meiner Eltern Georg und Johanna Schmid (geb. Kühlechner) in Schwaig bei Miesbach das Licht der Welt.

Nach achtjähriger Volksschulzeit in einer einklassigen Landschule trat ich eine dreieinhalbjährige Lehre im Kfz-Handwerk an, die ich im Frühjahr 1966 mit der Gesellenprüfung erfolgreich abschloß.

Ab Herbst 1966 besuchte ich das Kolleg Sankt Matthias bei Wolfratshausen und legte dort im März 1971 die Reifeprüfung ab.

Im Sommersemester 1971 erhielt ich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München die Zulassung zum Studium der Medizin und legte dort am 2. September 1976 erfolgreich das Staatsexamen ab.

Seit Januar 1977 bin ich als Medizinalassistent auf der chirurgischen Abteilung des Kreiskrankenhauses Roththalmünster tätig und habe im Juli 1977 auf die interne Abteilung obiger Klinik übergewechselt.

An der vorliegenden Dissertation habe ich vom Jahresende 1973 bis Jahresende 1976 mit einigen größeren Unterbrechungen gearbeitet.

